
**Der Einfluss des Phosphodiesterase-III-Inhibitors Milrinon auf die
rechtsventrikuläre Pumpfunktion des ischämischen, isolierten
Rattenherzens**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von

Hans-Jürgen Gdynia

aus Trostberg

Jena, Juli 2003

Gutachter:

1. PD Dr. J.M. Albes, Bernau

2. Prof. Dr. Werner, Jena

3. Prof. Dr. I. Aßmann, Erfurt

Tag der öffentlichen Verteidigung:

01.06.2004

1 Abkürzungsverzeichnis:

| | |
|--------------------------|--|
| AMP: | Adenosinmonophosphat |
| cAMP: | zyklisches Adenosinmonophosphat |
| AP: | Alkalische Phosphatase |
| ATP: | Adenosintriphosphat |
| bpm: | beats per minute; Schläge pro Minute |
| CI: | Cardiac Index |
| CO: | Cardiac Output |
| CSD: | Cardiac support device: Herzunterstützungssystem |
| EKZ: | Extrakorporale Zirkulation |
| G _i -Protein: | inhibierendes G-Protein |
| G _s -Protein: | stimulierendes G-Protein |
| HF: | Herzfrequenz |
| HLM: | Herz-Lungen-Maschine |
| HTx: | Herztransplantation |
| IABP: | Intraaortale Ballonpumpe |
| KG: | Körpergewicht |
| KOF: | Körperoberfläche |
| NYHA: | New York Heart Association |
| PDE-III: | Phosphodiesterase III |
| RV: | rechter Ventrikel |
| SEM: | Standardfehler des Mittelwertes |
| SVI: | Schlagvolumenindex |

Alle Abkürzungen werden auch im Text an entsprechender Stelle erklärt.

2 Inhaltsverzeichnis

| | | |
|------|---|----|
| 1 | Abkürzungsverzeichnis: | 3 |
| 2 | Inhaltsverzeichnis | 4 |
| 3 | Einleitung | 6 |
| 3.1 | Einführung..... | 6 |
| 3.2 | Physiologie der mechanischen Herzfunktion | 7 |
| 3.3 | Pharmakologie der Phosphodiesterase-III-Inhibitoren..... | 9 |
| 3.4 | Abbildung 1: Wirkungsmechanismus der Phosphodiesterase-III-Inhibitoren | 9 |
| 3.5 | Historische Entwicklung in der Therapie mit PDE-III-Inhibitoren..... | 11 |
| 3.6 | Tabelle 1: Pharmakologische Daten der Phosphodiesterase-III-Inhibitoren..... | 12 |
| 3.7 | Tabelle 2: Anwendungsgebiete und Nebenwirkungen der PDE-III-Inhibitoren | 13 |
| 3.8 | Ziele der Arbeit | 14 |
| 3.9 | Fragestellung | 15 |
| 4 | Material und Methoden | 16 |
| 4.1 | Herstellung der Reperfusionslösung | 16 |
| 4.2 | Tabelle 3: Zusammensetzung der Krebs-Henseleit-Bikarbonat Pufferlösung | 17 |
| 4.3 | Präparation des Versuchstieres..... | 17 |
| 4.4 | Reperfusionsmethode mittels modifiziertem Langendorffmodell | 18 |
| 4.5 | Abbildung 2: Schematische Darstellung des modifizierten Langendorff-Modells.. | 20 |
| 4.6 | Abbildung 3: Langendorffmodell vor Reperfusionsbeginn | 21 |
| 4.7 | Abbildung 4: Das rechtsventrikulär arbeitende Rattenherz | 22 |
| 4.8 | Bestimmung der cAMP Konzentration | 22 |
| 4.9 | Aufbereitung der schockgefrorenen Herzen | 23 |
| 4.10 | Prinzip des cAMP-Immunoassays | 24 |
| 4.11 | Statistische Methoden | 24 |
| 5 | Messungen..... | 25 |
| 5.1 | Experimentelles Protokoll | 25 |
| 5.2 | Abbildung 5: Schematische Darstellung des zeitlichen Versuchsablaufs..... | 25 |
| 5.3 | Experimentelle Gruppen | 27 |
| 6 | Ergebnisse | 28 |
| 6.1 | Cardiac Output, Cardiac Index, Herzfrequenz und Schlagvolumenindex | 28 |
| 6.2 | Tabelle 4: Mittelwerte und Standardabweichung der Mittelwerte des CO | 28 |
| 6.3 | Abbildung 6: Cardiac Output der Versuchsgruppen | 29 |

| | | |
|------|---|----|
| 6.4 | Tabelle 5: Mittelwerte und Standardabweichung der Mittelwerte der HF..... | 31 |
| 6.5 | Abbildung 7: Herzfrequenz der Versuchsgruppen..... | 32 |
| 6.6 | Tabelle 6: Mittelwerte und Standardabweichung der Mittelwerte des CI | 34 |
| 6.7 | Abbildung 8: Cardiac Index der Versuchsgruppen | 35 |
| 6.8 | Abbildung 9: Schlagvolumenindex der Versuchsgruppen..... | 36 |
| 6.9 | Tabelle 7: Statistisch signifikante Messergebnisse des Cardiac Output | 37 |
| 6.10 | Tabelle 8: Statistisch signifikante Messergebnisse der Herzfrequenz | 38 |
| 6.11 | cAMP-Konzentration | 39 |
| 6.12 | Tabelle 9: Mittelwerte und Standardabweichungen der cAMP-Konzentration | 39 |
| 6.13 | Abbildung 10: cAMP-Konzentration in pmol/mg Trockengewicht | 40 |
| 7 | Diskussion: | 41 |
| 7.1 | Pathophysiologie und Therapie der Herzinsuffizienz | 41 |
| 7.2 | Diskussion des Modells..... | 43 |
| 7.3 | Diskussion der Ergebnisse | 44 |
| 7.4 | Diskussion des Cardiac Output und der Herzfrequenz | 44 |
| 7.5 | Diskussion des Cardiac Index und des Schlagvolumenindex | 46 |
| 7.6 | Diskussion der ermittelten cAMP-Konzentrationen | 47 |
| 7.7 | Schlussfolgerungen: | 49 |
| 7.8 | Klinische Bedeutung | 50 |
| 8 | Zusammenfassung | 52 |
| 9 | Literaturverzeichnis:..... | 54 |
| 10 | Lebenslauf | 63 |
| 11 | Erklärung nach § 5 Abs.1, Satz 3.1-3.6 der Promotionsordnung der FSU Jena | 65 |
| 12 | Danksagung:..... | 66 |

3 Einleitung

3.1 Einführung

Eine schwerwiegende operative Komplikation bei kardiochirurgischen Eingriffen unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine (HLM) ist das Versagen des rechten Ventrikels (RV). Protektionsschäden können zu einer schwerwiegenden rechtsventrikulären Insuffizienz führen, die eine Entwöhnung von der HLM sehr erschweren oder unmöglich machen kann. Diese akute Insuffizienz tritt gehäuft nach langer Herz-Lungen-Maschinenzeit, z.B. im Rahmen eines Mitral- oder Doppelklappenersatzes, aber auch nach Herztransplantationen auf. Viele Arbeiten haben sich mit dem Problem der Rechtsherzbelastung beschäftigt (Van Trigt et al., 1995; Carrier et al., 1999). Die akute rechtsventrikuläre Insuffizienz kommt laut Van Trigt et al. nach orthotoper Herztransplantation (HTx) einerseits durch den ischämischen Schaden, hervorgerufen durch die notwendige Konservierung des Herzens, andererseits durch eine chronisch erhöhte Nachlast im Lungenstromgebiet nach Implantation in den Empfängerorganismus zustande (Van Trigt et al., 1995). Die Schädigung des Spenderherzens durch die notwendige Konservierung und die kalte Ischämie wurde von Gross et al. im Rahmen von tierexperimentellen und klinischen Studien untersucht (Gross et al., 1999), welcher nachweisen konnte, dass beide Faktoren per se zu einer Schädigung des Organs führen. Ob dieser Schaden ein primäres myokardiales Problem oder eine verminderte Ansprechbarkeit der Rezeptoren darstellt ist nicht hinreichend geklärt. Das klinische Resultat ist jedoch in beiden Fällen vergleichbar (Morris et al., 1988). Auch die mangelhafte Adaptation des rechten Ventrikels in Bezug auf den im Empfängerorganismus meist chronisch erhöhten Widerstand im kleinen Kreislauf kann das funktionelle Versagen des Spenderorgans bedingen (Van Trigt et al., 1995).

Die pharmakologische Therapie dieser rechtsventrikulären Insuffizienz wird mit Katecholaminen sowie durch aggressive Senkung der Vor- und Nachlast durchgeführt (Van Trigt et al., 1995; Carrier et al., 1999). Aus der Katecholaminwirkung ergibt sich ein erhöhter Sauerstoffbedarf des Organismus, welcher sich im weiteren postoperativen Verlauf negativ auswirken kann. Bei Nichtansprechen dieser Therapiemaßnahmen sind auch radikalere Strategien wie das temporäre Offenbelassen des Sternums zur reinen Entlastung oder auch die

Implantation mechanischer Unterstützungssysteme wie zum Beispiel einer intraaortalen Ballonpumpe (IABP) und anderer „Cardiac Support Device“ Systeme (CSD) durchgeführt worden (Iyer et al., 1997; Arafa et al., 2000; Mubeen et al., 2001; Konertz et al., 2001). Die Myokardprotektion des Herzens ist nach langjähriger Forschung auf einem Stand, der in der präischämischen Phase kaum weitere Optimierungen erwarten lässt. Das Ziel dieser Arbeit ist es, durch die Evaluierung des Einflusses des Phosphodiesterase-III-Inhibitors Milrinon auf die rechtsventrikuläre Pumpfunktion des ischämischen, isolierten Rattenherzens Grundlagen für neue therapeutische Optionen in der Behandlung der postoperativen Rechtsherzinsuffizienz zu schaffen.

3.2 Physiologie der mechanischen Herzfunktion

Sowohl am gesunden als auch am insuffizienten Herzen ist für eine ökonomische Schlagarbeit ein komplexes und hoch dynamisches Zusammenspiel einer Vielzahl extrazellulärer und intrazellulärer Mechanismen notwendig. Neben hämodynamisch wirksamen Einflüssen wie die Höhe des systemischen Blutdrucks und dem totalen peripheren Widerstand spielen vor allem der Frank-Starling-Mechanismus und die vegetative Innervation der Herzmuskelzellen eine zentrale Rolle bei der Anpassung der Herzleistung an wechselnde Anforderungen. Der sogenannte Frank-Starling-Mechanismus befähigt das Herz, seine Förderleistung autoregulatorisch, d.h. ohne neuro-hormonale oder andere Einflüsse an veränderte Druck- oder Volumenverhältnisse anzupassen. Während dieser Mechanismus unter normalen Bedingungen vor allem für die Angleichung der Minutenvolumina beider Herzventrikel verantwortlich ist, stehen bei der Anpassung der Herzleistung an Belastungen die Einflüsse der körpereigenen Hormone Acetylcholin, Noradrenalin und Adrenalin im Vordergrund. Während durch Acetylcholin, der Überträgersubstanz des parasympathischen Nervus vagus, kardiodepressive Effekte ausgelöst werden, steigern die Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin als Überträgersubstanzen des sympathischen Nervensystems sowohl die Herzfrequenz (positive Chronotropie), die Kontraktionskraft des Myokards (positive Inotropie) als auch die Überleitungsgeschwindigkeit am AV-Knoten (positive Dromotropie). Maßgeblich verantwortlich für diese Katecholaminwirkungen ist die Interferenz der Überträgersubstanzen mit dem β_1 -Rezeptor der Herzmuskelzellen. Dieser Rezeptor besteht aus sieben Transmembrandomänen, die an heterotrimere G_s -Proteine (stimulierende G-Proteine) gekoppelt sind. Bei Katecholaminstimulierung des Rezeptors führen diese G_s -

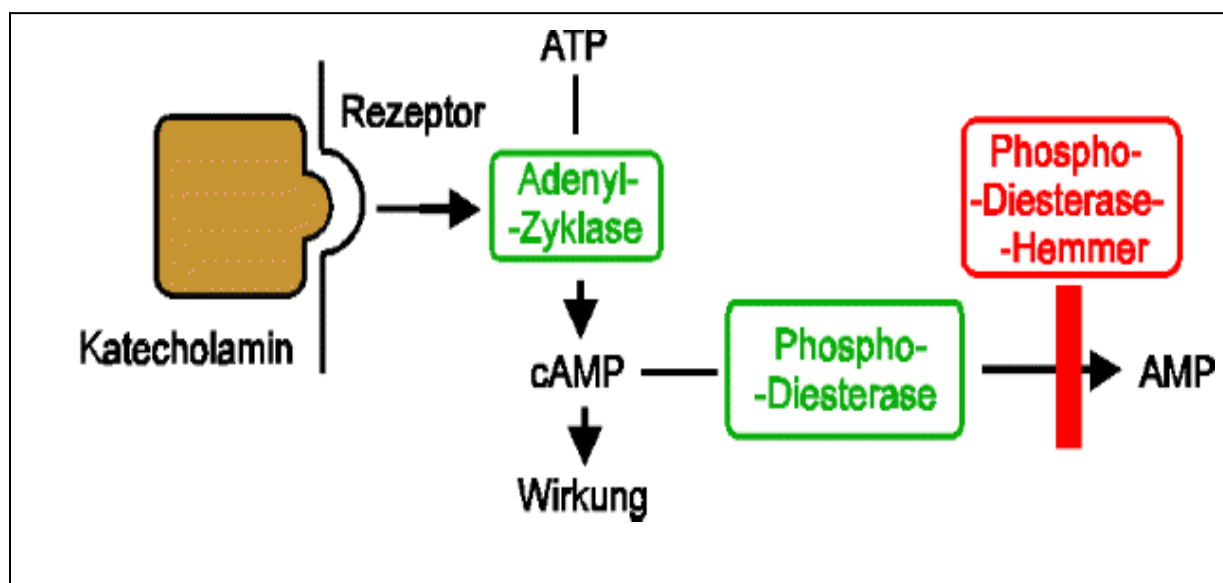
Proteine zu einer Stimulierung des Enzyms Adenylatzyklase, das aus zellulärem ATP (Adenosintriphosphat) den second-messenger 3'-5'-cAMP durch Ringbildung und Diphosphatabspaltung bildet. Es ist experimentell gut gesichert, dass cAMP zu einer Verstärkung des langsamen Ca^{2+} -Einwärtsstrom in die Herzmuskelzellen durch eine Erhöhung der Ca^{2+} -Leitfähigkeit führt (Yeqing und Walker, 1998). Dieser Effekt erklärt die positiv inotrope Wirkung durch eine Intensivierung der elektromechanischen Koppelung. Der positiv dromotrope Effekt am AV-Knoten kommt ebenfalls durch diesen vermehrten langsamen Ca^{2+} -Einwärtsstroms zustande. Am Sinusknoten führt die gesteigerte intrazelluläre Kalziumaufnahme zu einer Erhöhung des Schrittmacherstroms und so zu einer erhöhten Herzfrequenz.

Der second-messenger cAMP wird nach Beendigung der Rezeptorstimulation durch die Katecholamine von einem Enzym, der Phosphodiesterase, zu AMP (Adenosinmonophosphat) abgebaut. Da cAMP als ubiquitärer second-messenger zu betrachten ist, kommen Enzyme von der Phosphodiesterasegruppe in allen Zellen vor, wobei die Phosphodiesterase-III als herzmuskelspezifisches Enzym dieser Gruppe isoliert werden konnte.

3.3 Pharmakologie der Phosphodiesterase-III-Inhibitoren

Der Wirkungsmechanismus der Phosphodiesterase-III-Inhibitoren ist in der folgenden Abbildung 1 dargestellt (Deiml, 2001):

3.4 Abbildung 1: Wirkungsmechanismus der Phosphodiesterase-III-Inhibitoren



Inhibitoren der herzmuskelspezifischen Phosphodiesterase-III bewirken ein Ansteigen des zyklischen AMP durch Abbauehemmung, was zu einem Ansteigen des Kalziumspiegels im Myozyten führt, welcher seinerseits die positiv inotrope Wirkung bedingt (Morgan et al., 1986). Sehr hohe Dosen von Phosphodiesterase-III-Inhibitoren, die weit über dem therapeutischen Bereich liegen, können durch eine Desensitivierung der kontraktile Elemente der Herzmuskelzellen gegenüber Kalzium zu einem negativ inotropen Effekt führen (Gwathmey und Morgan, 1985), was aber in der klinischen Praxis wegen der weitaus niedrigeren Applikationsdosis keine Rolle spielt. Während an der glatten Muskulatur der Gefäße der Anstieg des zellulären cAMP-Spiegels dagegen eher zu einer Tonusabnahme führt, scheint die an Skelettmuskelfasern zu beobachtende Abnahme der Kontraktilität nicht durch die Hemmung der Phosphodiesterase-III, sondern durch eine Reduzierung der Kalziumempfindlichkeit der Muskelfasern hervorgerufen zu werden (Seow et al., 1998). Der starke vasodilatierende Effekt dieser Medikamentengruppe wird unter anderem in der

Koronarchirurgie bei perioperativen Spasmen von arteriellen Bypass-Grafts ausgenutzt (Liu et al., 1997).

Weiterhin bewirken diese Substanzen an der Herzmuskulatur eine positive Lusitropie, was eine Verlängerung der isovolumetrischen Entspannungsphase bedeutet (Taketo et al., 2000). Auch ist bekannt, dass von Phosphodiesterase-III-Inhibitoren ein direkt cardioprotektiver Effekt ausgeht, der diesem Phänomen zugrundeliegende Mechanismus konnte bisher jedoch noch nicht bis ins Detail aufgeklärt werden. Durch Versuche mit Hunden konnte bereits nachgewiesen werden, dass dieser Effekt von der Aktivität der Proteinkinase A (PK-A) und der MAP-Kinase (Mitogen-Activated Proteinkinase) abhängt (Sanada et al., 2001).

Im Gegensatz zu den Katecholaminen, die am Herzmuskel über den β_1 -Rezeptor ihre positiv inotrope Wirkung entfalten, steigt der Sauerstoffverbrauch des Myozyten unter Verwendung der Phosphodiesterase-III-Inhibitoren kaum an (Sunderdiek et al., 2000), was eine Optimierung und Ökonomisierung der Schlagarbeit zur Folge hat (Di Bianco et al., 1991). Eine weitere positive Eigenschaft dieser Substanzen ist, dass sie nicht zu einer Downregulation von Rezeptoren führen. Diese Downregulation, besonders von β_1 -Rezeptoren, ist maßgeblich an der Pathophysiologie der chronischen Herzinsuffizienz beteiligt. Dabei wird diese Downregulation durch den Anstieg der körpereigenen Katecholamine verursacht, die versuchen die Herzarbeit zu ökonomisieren und für eine ausreichende Durchblutung der peripheren Organe zu sorgen. Durch diese dauerhaft erhöhte β_1 -Rezeptor-Stimulierung kommt es zu einer Phosphorylierung und Entkopplung des Rezeptors, woraufhin dieser in die Zelle internalisiert und so downreguliert wird. Weiterhin ist bekannt, dass es durch diese Phosphorylierung des Rezeptors durch eine sogenannte β -AR-Kinase zu einer Überexpression inhibitorischer G_i -Proteine und zu einer starken Aktivitätsabnahme des Enzyms Adenylatzyklase kommt (Liggett, 2001). Diese Tatsache führt in der Therapie der Herzinsuffizienz zu einem verminderten Ansprechen extern zugeführter Katecholamine und so zu einer ständig notwendigen Dosissteigerung. Auch bei der Herztransplantation spielen diese Veränderungen des betaadrenergen Rezeptorstatus eine bedeutende Rolle, was Yokohama durch die heterotope Transplantation von Rattenherzen nachweisen konnte (Yokohama et al, 1992).

3.5 Historische Entwicklung in der Therapie mit PDE-III-Inhibitoren

Der erste klinisch verwendete PDE-III-Inhibitor war Amrinon, der in Langzeitstudien bei Kardiomyopathiepatienten eine deutliche Verbesserung der Herzleistung zeigte (Likoff et al., 1983). Dieses Anfangs viel verwendete Medikament wurde aber nach einigen plötzlichen ungeklärten Todesfällen von Patienten kaum mehr verwendet (Kark und Gillmer, 1984). Die Nachfolgesubstanz Enoximon wurde in oraler Darreichungsform nach ersten Erfolgen bei Kardiomyopathiepatienten aus denselben Gründen wie Amrinon nicht mehr bevorzugt verwendet (Maskin et al., 1987; Packer, 1989; Treese et al., 1989). Auch konnte nachgewiesen werden, dass Milrinon in der oralen Darreichungsform bei Patienten mit schwerer chronischer Herzinsuffizienz zu einem Anstieg der Morbidität und Mortalität führt (Packer et al., 1991). In der parenteralen Therapie der akuten linksventrikulären Insuffizienz ließen sich hingegen mit Enoximon sehr gute Wirkungen erzielen (Lobato et al., 1998). Ein sehr großer Nachteil von Enoximon hingegen ist die sehr lange Halbwertszeit der Substanz, die im Bereich von mehreren Stunden liegt und deshalb für den Akuteinsatz, z.B. im Rahmen einer Operation, nicht geeignet ist.

Diesen Nachteil weist der PDE-III-Inhibitor Milrinon, dessen Halbwertszeit bei 20 Minuten liegt, nicht auf, was die gute Steuerbarkeit und die günstige therapeutische Breite des Medikaments bedingt; dies macht Milrinon auch in akuten Situationen einsetzbar (Kirsten et al., 1998a, 1998b). Untersuchungen über spezifische Wirkungen von Milrinon auf das rechtsventrikuläre Myokard wurden bisher nicht publiziert.

Von Milrinon wurde bereits ein Analogon entwickelt (6-ethyl-5-propionyl-1,2-dihydro-2-oxo-3-pyridin-carbonitrile), welches im Experiment auf Rattenvorhöfe einen stärkeren positiven inotropen Effekt ergab als die Muttersubstanz Milrinon, was allerdings auf eine Wirkung auf den A₁-Adenosinrezeptor zurückgeführt wird. Da der positiv inotrope Effekt auch durch den Betablocker Propranolol nicht aufgehoben werden konnte, geht man davon aus, dass diese Wirkung des neuen Milrinon Analogons ausschließlich auf den Agonismus mit endogenem Adenosin zurückzuführen ist (Floreani et al., 1997).

In Tabelle 1 erfolgt eine Übersicht über die in Deutschland zur Arzneimitteltherapie zugelassenen Phosphodiesterase-III-Inhibitoren und deren pharmakologischen Besonderheiten. Die Anwendungsgebiete, Kontraindikationen und Nebenwirkungen dieser Medikamentengruppe können der Tabelle 2 entnommen werden (Dettli L, 1996; Rote Liste, 2002).

3.6 Tabelle 1: Pharmakologische Daten der Phosphodiesterase-III-Inhibitoren

| Wirkstoff | Handelsname | HWZ | Appl. | max. Tagesdosis | Besonderheiten |
|-----------------|-------------|---------|-------|-----------------|--|
| Amrinon | Wincoram® | 2 - 4 h | i.v. | 0,5 mg/kg KG | Chemisch nicht kompatibel mit Dobutamin, Furosemid, Bumetanid und Dextrose |
| Enoximon | Perfan® | 4,2 h | i.v. | 3-10 mg/kg KG | Chemisch nicht kompatibel mit Glucose |
| Milrinon | Corotrop® | 20 min | i.v. | 1,13 mg/kg KG | Chemisch nicht kompatibel mit Furosemid und Bumetanid |

HWZ: Plasmahalbwertszeit

Appl: Applikationsart

3.7 Tabelle 2: Anwendungsgebiete und Nebenwirkungen der PDE-III-Inhibitoren

| Wirkstoff | Anwendung | Kontraindikationen | Mögliche Nebenwirkungen |
|-----------------|---|---|--|
| Amrinon | Kurzzeitbehandlung (max. 14 Tage) der Herzinsuffizienz NYHA IV | Hypertrophisch obstruktive Kardio- myopathie | Bei den 3 Wirkstoffen können folgende Nebenwirkungen auftreten: |
| | | Myokardaneurysma | |
| | | Vorhofflattern Vorhofflimmern | Supraventrikuläre und Ventrikuläre Rhythmus- störungen |
| | | Schwere Nieren- und Leberinsuffizienz Thrombozytopenie | Thrombozytopenie |
| Enoximon | Kurzzeitbehandlung (max. 48 Std.) der Herzinsuffizienz NYHA IV | Angina pectoris Einschränkung der Lungen-, Leber- Und Nierenfunktion | Einschränkung der Leber- und Nierenfunktion Hypotonie selten Hypertonie |
| | | Akute Herzinsuffizienz nach Herzchirurgie | Muskelschmerzen Flüssigkeitsretention Fieber, Kopfschmerzen Schüttelfrost |
| | | | Polyserositis |
| | | | |
| Milrinon | Kurzzeitbehandlung der Herzinsuffizienz, die mit anderen Möglichkeiten nicht ausreichend behandelbar ist | Obstruktive Aorten- oder Pulmonal- erkrankung | Splenomegalie |
| | | Ventrikulaneurysma Myokarditis | Vaskulitis |
| | | Herzinsuffizienz inf. Hyperthyreose | Anämie |
| | | | |

NYHA: New York Heart Association

3.8 Ziele der Arbeit

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Verbesserung der postischämischen medikamentösen Beeinflussung der rechtsventrikulären Insuffizienz am Herzen durch Phosphodiesterase-III-Inhibitoren, welche die ventrikuläre Schlagarbeit im Gegensatz zu den Katecholaminen ohne Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs verbessern. Die positiven Effekte dieser Substanzgruppe sind bereits in mehreren Arbeiten, allerdings nicht in Bezug auf den rechten Ventrikel, beschrieben worden (Bauer et al., 1997; Cossolini et al., 1997; Laitinen et al., 1997). Auch liegen bereits klinische Erfahrungen mit PDE-III-Inhibitoren bei der Therapie der ventrikulären Insuffizienz vor (Boldt et al., 1995; Cusick et al., 1998). Allerdings hat sich der Einsatz der PDE-III-Inhibitoren trotz dieser positiven Ergebnisse im klinischen Alltag bislang nicht durchgesetzt. Ziel dieser Arbeit ist es, den positiv inotropen Effekt von Milrinon auf das akut rechtsbelastete Herz tierexperimentell am extrakorporalen rechtsventrikulär arbeitenden Rattenherzmodell gezielt unter erhöhten Nachlastbedingungen zu evaluieren.

Da bei dem verwendeten Modell sowohl Pre- als auch Afterload definiert sind, ist es möglich, den positiv inotropen Effekt unabhängig von den Einflüssen vor- und nachlastsenkender Pharmaka zu untersuchen. Durch diese tierexperimentelle Studie soll der Einfluss von Milrinon sowohl isoliert, als auch in Kombination und im Vergleich mit Katecholaminen evaluiert werden, wobei Synergismen zu erwarten sind, die neue Erkenntnisse für klinische Behandlungsstrategien erbringen würden. Durch den Vergleich des Phosphodiesterase-III-Inhibitors Milrinon, dessen Wirkung β -Rezeptor unabhängig ist, mit der rezeptorabhängigen positiv inotropen Wirkung der Katecholamine werden darüber hinaus weitere Einblicke in die Entstehung des Protektionsschadens des rechten Ventrikels nach Ischämie möglich. Durch die Länge der Ischämie von vier Stunden, die zudem unter hypothermen Bedingungen erfolgt, wird weiterhin eine besonders gute Vergleichbarkeit mit den Verhältnissen bei Herztransplantationen erreicht, da die Spenderherzen nach Entnahme ähnlichen Bedingungen ausgesetzt sind.

Zielgrößen der Untersuchung waren die Auswurfleistung des rechten Ventrikels nach vierstündiger Ischämie und simuliert erhöhten Nachlastbedingungen und die dabei messbaren Änderungen der Herzfrequenz. Die Auswurfleistung des rechten Ventrikels wurde dabei direkt volumetrisch erfasst, die Herzfrequenz wurde ausgezählt. Hieraus können weitere Parameter errechnet werden: Cardiac Index (CI) in $\text{ml}/\text{min}/\text{m}^2$ KOF, Schlagvolumen in ml und der Schlagvolumenindex (SVI) in ml/m^2 KOF.

Am Ende des Versuches wurde das Ventrikelmyokard für eine weitergehende biochemische Untersuchung in flüssigem Stickstoff schockgefroren.

Zielgröße dieser biochemisch-immunhistochemischen Quantifizierung war der Gehalt an zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) der isolierten rechten und linken Ventrikel der verschiedenen Versuchsgruppen.

3.9 Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit wurden folgende Fragestellungen untersucht:

1. In einem Rattenmodell sollte geklärt werden, welchen Einfluss der Phosphodiesterase-III-Inhibitor Milrinon auf die Auswurfleistung des rechten Herzens isoliert und in Kombination mit Katecholaminen aufweist.
2. Weiterhin sollten die Auswirkungen des Phosphodiesterase-III-Inhibitor Milrinon auf die energiereichen Phosphate im Myokard der Ratte unter verschiedenen Nachlastbedingungen untersucht werden.

4 Material und Methoden

Die Genehmigung zur Durchführung von Tierversuchen nach § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes wurde vom Thüringer Landesverwaltungsamt erteilt (Reg.-Nr. 02-22/00).

Die Durchführung der Versuche erfolgte an Rattenherzen. Nach Präparation der Tiere und Entnahme der Herzen wurden die Koronararterien über eine in die Aorta eingebrachte Kanüle reperfundiert. Weitere Kanülen wurden in der Vena cava inferior und der Arteria pulmonalis platziert, was es ermöglichte, die Auswurfleistung des rechten Ventrikel isoliert bei definierter Vorlast und variierbaren Nachlasthöhen zu betrachten. Diese Reperfusion erfolgte mit einer erythrozytenhaltigen modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung. Aufgrund der günstigen rheologischen Eigenschaften und der guten Vergleichbarkeit mit menschlichen Erythrozyten wurden zur Herstellung der Reperfusionslösung Rindererythrozyten verwendet. Die Reperfusion erfolgte mittels eines extrakorporalen Modells, das sowohl eine Perfusion im ‚Langendorff-Modus‘ als auch im ‚Working Heart Modus‘ zulässt.

4.1 Herstellung der Reperfusionslösung

Das für die Reperfusion benötigte Rinderblut wurde freundlicherweise vom Schlachthof Jena zur Verfügung gestellt. Das Blut wurde jeweils am Vortag des Versuchs dort beschafft und aufbereitet. Wegen des höheren Hämatokritwertes wurde ausschließlich das Blut von männlichen Tieren verwendet und mit Heparin versetzt (3 ml Heparin/1000 ml Blut; LIQUEMIN® N 25000 der Firma Roche).

Um daraus möglichst reines Erythrozytenkonzentrat zu erhalten wurde das Rinderblut zehn Minuten lang bei 4 °C und 4000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert, danach der Überstand mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Das Konzentrat wurde mit 0,9 % NaCl aufgefüllt und erneut zehn Minuten unter den oben angegebenen Bedingungen zentrifugiert. Nachdem der Überstand erneut abgesaugt worden ist, wurde das Konzentrat (ca. 600 ml) wieder mit isotonischer Kochsalzlösung versetzt und bis zur Reperfusion im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt. Am Versuchstag wurde das Konzentrat erneut zentrifugiert und die überstehende Kochsalzlösung abgesaugt. Das gewonnene Erythrozytenkonzentrat wurde dann mit einer

modifizierten Krebs-Henseleit-Bikarbonat-Pufferlösung versetzt, deren Zusammensetzung der Tabelle 3 entnommen werden kann.

4.2 Tabelle 3: Zusammensetzung der Krebs-Henseleit-Bikarbonat Pufferlösung

| Konzentration in mmol/l | |
|---------------------------------|------|
| NaCl | 118 |
| KH ₂ PO ₄ | 1,2 |
| KCl | 4,9 |
| CaCl ₂ | 2,5 |
| MgSO ₄ | 1,2 |
| NaHCO ₃ | 25 |
| Glucose | 11,1 |

Diese Lösung wurde mittels HCl und NaOH auf einen pH-Wert von 7,4 eingestellt. Das Mischverhältnis Erzythrozytenkonzentrat/Krebs-Henseleit-Lösung wurde so gewählt, dass sich ein Hämatokritwert von ca. 30 % ergab. Diese Kombination von Krebs-Henseleit-Lösung mit Zusatz von gewaschenen Rindererythrozyten hat sich in zahlreichen extrakorporalen Herz- und Lungenperfusionsmodellen bewährt (Fukuse et al., 1996).

4.3 Präparation des Versuchstieres

Die Untersuchungen wurden an isolierten retrograd perfundierten Rattenherzen durchgeführt. Es wurden ausschließlich Herzen männlicher Wistar-Ratten im Alter von 80-100 Tagen und einem Körpergewicht von 250 –350 g verwendet.

Vor Präparationsbeginn wurde das Tier gewogen und mit ca. 5 ml Äther in einem Glasgefäß vornarkotisiert. Danach folgte die eigentliche Narkotisierung durch die intraperitoneale Injektion von 12 mg/100 g KG Pentobarbital-Natrium (NARCOREN® der Firma Rhone Merieux GmbH; entsprechend 0,075 ml/ 100 g KG).

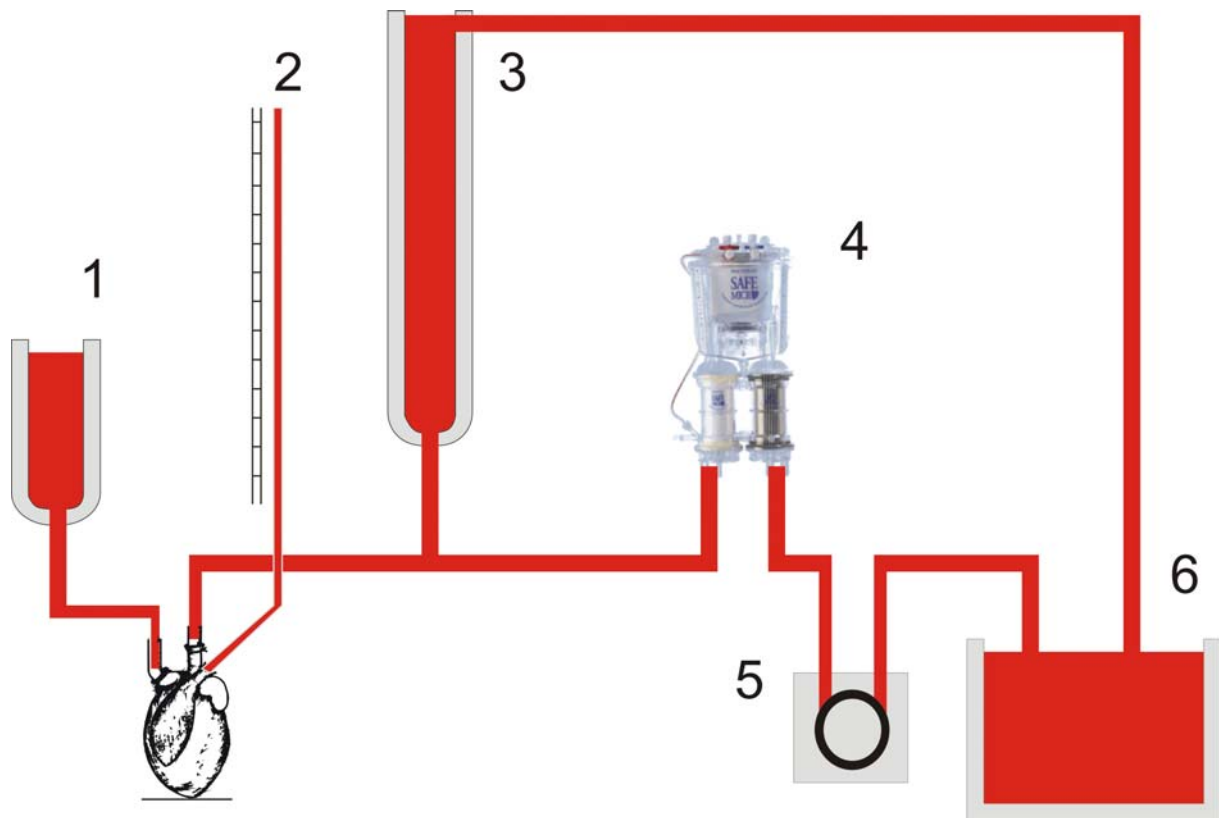
Nachdem das Tier auf einer OP-Platte in Rückenlage fixiert worden war, erfolgte die Laparatomie entlang der Medianlinie vom Unterbauch bis zum Prozessus xiphoideus. Es erfolgen weitere Schnitte entlang der Rippenbögen, so dass der Thorax nach Durchtrennung des Diaphragma abdominale hochgeklappt werden konnte. Nach der Thorakotomie wurde die Vena cava inferior aufgesucht und 100 IE Heparin/ 100 g KGW appliziert (LIQUEMIN® N 25000 der Firma Roche), danach wurde die untere Hohlvene durch einen Metallclip verschlossen. Als nächstes wurde die Aorta ascendens aufgesucht und über eine Kanüle drei Minuten 4 °C kalte St. Thomas Hospital-Kardioplegie-Lösung appliziert, wobei die distale Aorta abgeklemmt wurde. Gleichzeitig wurde kühle Kardioplegie-Lösung in den Thorax eingebracht. Nach diesem Arbeitsschritt wurde die Vena cava superior aufgesucht und per Metallclip verschlossen, anschließend wurde das Herz nach Durchtrennung der großen Gefäße entnommen. Alle weiteren Präparationsschritte wurden unter lokaler Kühlung vorgenommen. Als nächstes wurden in die Aorta ascendens, die Vena cava inferior und die Arteria pulmonalis Metallkanülen eingeführt und durch Ligaturen befestigt. Abschließend wurde das kanülierte Herz für vier Stunden in 4 °C kalter isotonischer Kochsalzlösung gelagert.

4.4 Reperfusionsmethode mittels modifiziertem Langendorffmodell

Das für die Reperfusion der Herzen verwendete Modell wurde bereits 1895 von Langendorff beschrieben und benannt (Langendorff, 1895), durch die Arbeitsgruppe um Neely weiterentwickelt (Neely et al., 1967) und für spezielle Untersuchungen am rechten Ventrikel entsprechend abgeändert. Dieses rechtsventrikuläre Modell hat sich bereits in zahlreichen Versuchsreihen bewährt (Albes et al., 1994). Mit Hilfe des von uns verwendeten modifizierten Langendorff-Modells sind sowohl Perfusionen im „Langendorff-Modus“ als auch im „Working Heart Modus“ möglich. Für die Perfusion im sogenannten „Langendorff-Modus“ wird die Aorta durch eine eingebrachte Kanüle retrograd perfundiert, was neben einer Perfusion der Koronararterien auch eine einfache Applikation von Pharmaka möglich macht. Im „Working Heart Modus“ wird dem rechten Vorhof eine definierte Vorlast (3 cm Wassersäule) angeboten, wodurch durch die aktive Ventrikelkontraktion ein Blutausswurf über die ebenfalls kanülierte Pulmonalarterie möglich wird. Der modifizierte Langendorff-Apparat (Abb. 2) besteht aus mehreren Doppelwandgefäßen (Perfusat-Reservoir, Oxygenator, Vorlastpool, Perfusionspool, Organwanne, Auffangreservoir) die auf konstant 37° C gewärmt werden. Der Vorlastpool und der Perfusionspool sind mit einem Y-Verteiler mit dem

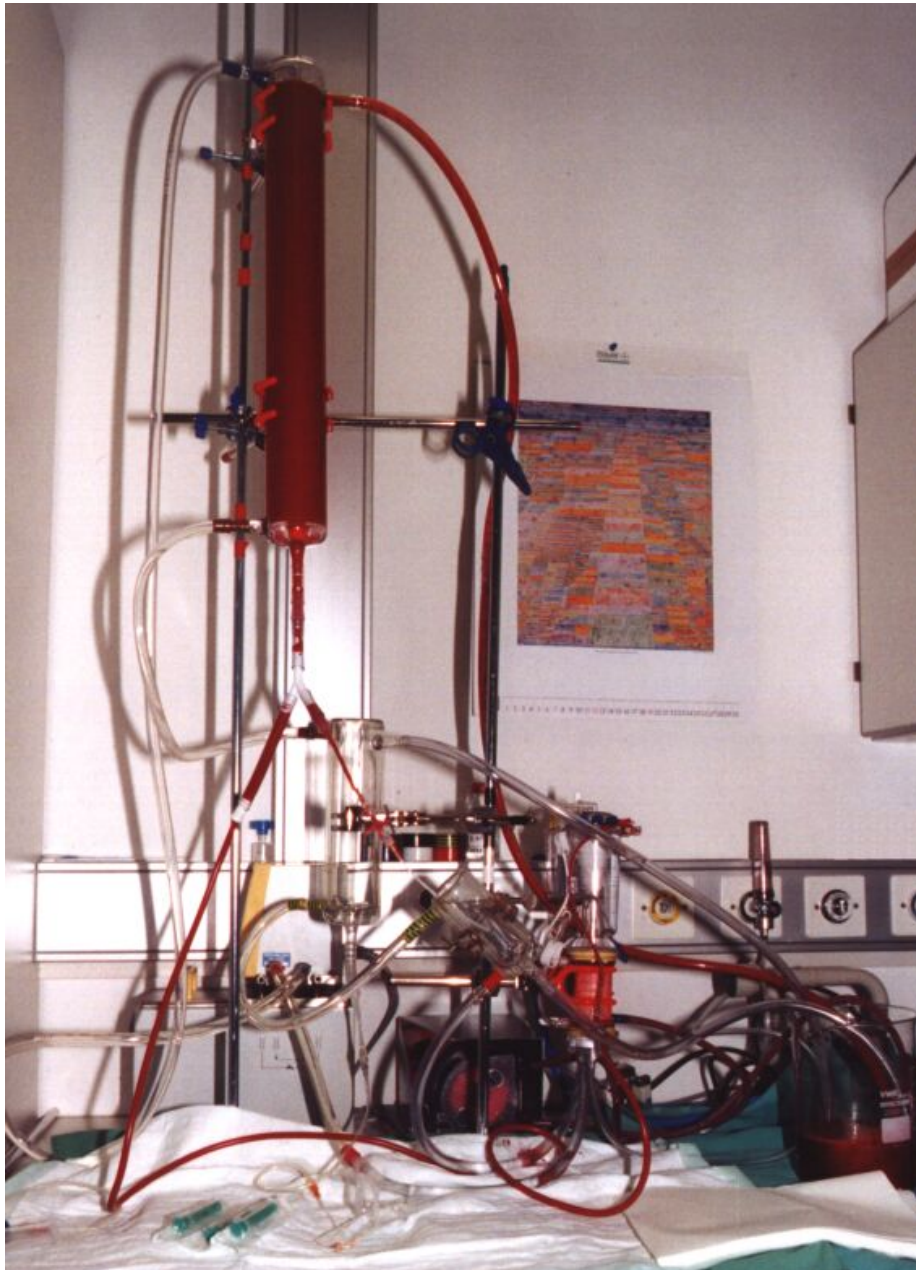
Perfusat-Reservoir verbunden. Das Herz wird über die rechtsatrialen Kanüle mit dem Vorlastpool verbunden, dessen Höhenniveau sich 5 cm über der Organwanne befindet. Die Aortenkanüle wird mit dem Perfusionspool (90 cm über dem Niveau der Organwanne) verbunden. Dabei wurde ein Dreiwegehahn zwischengeschaltet, über den die zu evaluierenden Medikamente problemlos mittels Perfusor verabreicht werden konnten. Die rechtsventrikuläre Kanüle wurde mit einem Silikonschlauch und einem 20 ml fassenden Reservoir verbunden, mit dem die verschiedenen Nachlast-Wassersäulen (5-40 cm H₂O) erzeugt werden konnten. Anhand dieses Reservoirs wurde auch das bei der jeweiligen Nachlast ausgeworfene Volumen bestimmt. Das Perfusat wurde vor Versuchsbeginn in einem Extrakreislauf mit Rollerpumpe und Oxygenator mit Sauerstoff und Kohlendioxid angereichert. Aus versorgungstechnischen Gründen musste der Oxygenatortyp während der Durchführung der Versuche gewechselt werden. Es wurden folgende Geräte verwendet: Polystan Safe Micro Neonatal oxygenating system, Dideco D 901 Lilliput 1 new born hollow fiber oxygenator, Medes Hilite 7000. Der Oxygenator wurde mit 95 % O₂ und 5 % CO₂ begast. Der pH-Wert, der Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck wurden jeweils vor dem Versuch auf die gewünschten Werte eingestellt, zweimal während des Versuchs bestimmt und bei Bedarf nachjustiert. Folgende Zielgrößen wurden dabei eingehalten: pO₂ > 300 mmHg, pCO₂ > 30 < 50 mmHg, pH > 7,3 < 7,5. Die folgende Abbildung 2 zeigt eine schematische Darstellung des Versuchsaufbaus. Das blutgefüllte Langendorff-Modell vor Reperfusionsbeginn ist in Abbildung 3, das rechtsventrikulär reperfundierte Rattenherz in Abbildung 4 als Foto dargestellt.

4.5 Abbildung 2: Schematische Darstellung des modifizierten Langendorff-Modells

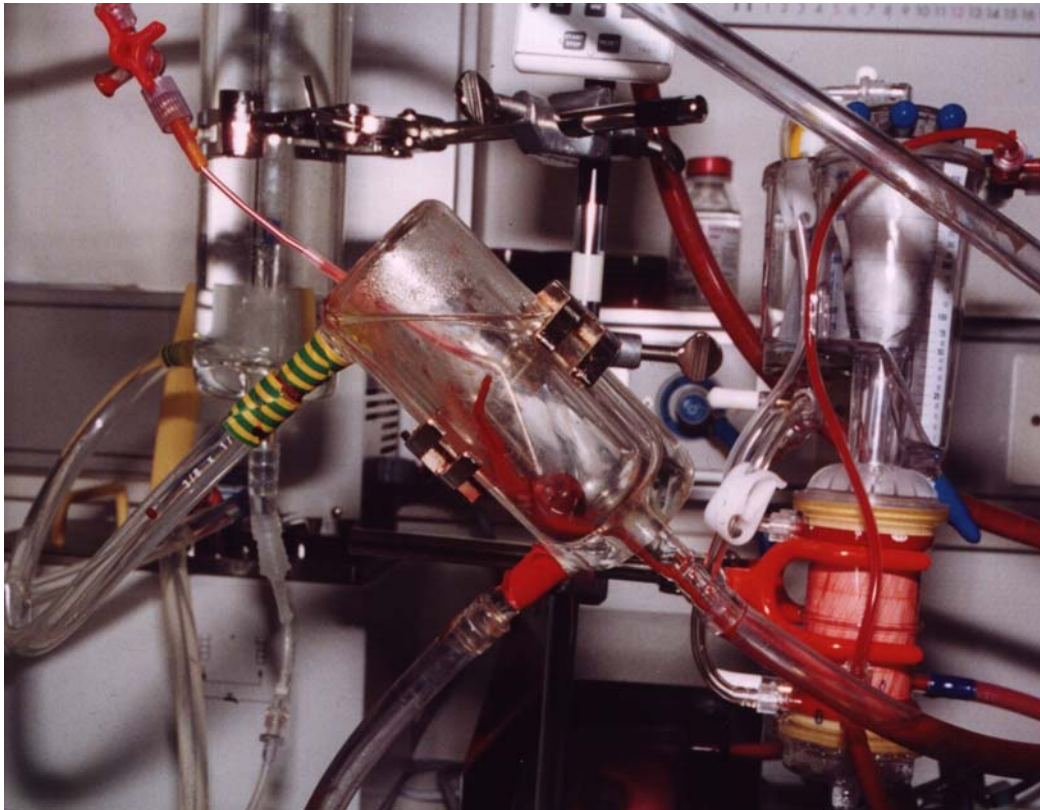


1: Vorlastpool, 2: Nachlastsäule, 3: Perfusionssäule, 4: Oxygenator
5: Rollerpumpe, 6: Perfusat-Reservoir

4.6 Abbildung 3: Langendorffmodell vor Reperfusionbeginn



4.7 Abbildung 4: Das rechtsventrikulär arbeitende Rattenherz



4.8 Bestimmung der cAMP Konzentration

Die Konzentration an zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) wurde jeweils getrennt für den rechten und linken Ventrikel bestimmt. Die Bestimmung erfolgte nach Auftauen der Herzen mittels einem cAMP-Immunoassays der Firma R&D Systems als spektralphotometrische Absorptionsmessung bei einer Messwellenlänge von 405 nm und einer Referenzwellenlänge von 540 nm. Für die Messungen wurde das Spektralphotometer ‚Sunrise‘ der Firma TECAM verwendet.

4.9 Aufbereitung der schockgefrorenen Herzen

Die Tiefgefrorenen rechten und linken Ventrikel wurden aus den Probenröhrchen entnommen und getrennt voneinander gewogen. Nach einer Zwischenkühlung in einem mit flüssigem Stickstoff gefülltem Styroporgefäß wurden die rechts- und linksventrikulären Myokardanteile mittels eines Mörsers pulverisiert. Durch erneutes Zufügen von flüssigem Stickstoff wurde ein Auftauen der Myokardanteile während des Pulverisierungsvorganges verhindert. Nachdem nach ausreichender Pulverisierung der Reststickstoff verdampft war wurde ein Teil des Gewebes zur Trocknung in ein Glasgefäß mit bekanntem Leergewicht gegeben. Das restliche Gewebepulver wurde anschließend in einen mit 10 Volumeneinheiten fünfprozentiger Trichloratlösung vorgefüllten Homogenisator gegeben. Nach dem Homogenisieren wurde das Homogenisat in ein Zentrifugenröhrchen umgefüllt, welches dann auf Eis zwischengelagert wurde. Anschließend wurden die Proben für 10 Minuten bei 600 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und die Überstände mit 3 Volumeneinheiten gesättigtem Ether extrahiert. Zu den gewonnenen Extrakten wurde nun der Assaypuffer zugegeben und das cAMP-Immunoassay nach Herstelleranleitung gestartet.

4.10 Prinzip des cAMP-Immunoassays

Das von uns verwendete cAMP-Immunoassay der Firma R&D Systems basiert auf einer kompetitiven Verdrängungsreaktion, in der das cAMP der zu untersuchenden Probe mit einer definierten Menge mit Alkalischer Phosphatase (AP) markiertem cAMP um die Bindungsstellen eines polyklonalen cAMP-Kaninchen-Antikörpers konkurriert.

Während der Inkubation binden diese polyklonalen Antikörper an Antiantikörper von Ziegen, die fest in den Vertiefungen der Mikrotiterplatte adhären sind. Nach einer Inkubationszeit von einer Stunde wurden die Vertiefungen der Mikrotiterplatte mit einer speziellen Spüllösung gespült um die ungebundenen Anteile zu entfernen. Nach drei Spülungen wurde eine definierte Menge an Paranitrophenylphosphat zugegeben, welches durch die Alkalische Phosphatase in Paranitrophenol und Phosphat gespalten wird, was mit einer charakteristischen Farbänderung einhergeht. Die Intensität dieser Farbänderung wurde photometrisch als Absorptionsmessung bei einer Wellenlänge von 405 nm bestimmt, sie ist der zu bestimmenden cAMP-Konzentration indirekt proportional. Aus den Absorptionswerten von mitanalysierten cAMP-Standardproben konnte anhand der Steigung der erstellten Standardkurve die cAMP-Konzentration der einzelnen rechten und linken Ventrikel berechnet werden.

4.11 Statistische Methoden

Die deskriptive Statistik der Versuchsergebnisse erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation der Friedrich-Schiller-Universität Jena durch die Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen. Die Ergebnisse der einzelnen Versuchsgruppen wurden mit Hilfe des Statistikprogrammes SPSS für Windows (Version 10.0) aufgearbeitet. Dabei wurden die Mittelwerte der Gruppen untereinander auf das Vorliegen signifikanter Unterschiede der Werte überprüft. Zur Anwendung kamen der Levene-Test der Varianzgleichheit und multiple Zweistichproben-t-Tests (ANOVA), statistische Signifikanz wurde bei $p < 0,05$ angenommen.

Herzen erfolgte daraufhin 10 Minuten lang die Reperfusion im „Working Heart Modus“ mit einer definierten rechtsatrialen Vorlast von 3 cm H₂O. Nach diesem Stadium erfolgte die zweite protokollierte Blutgasanalyse. Bei unveränderten Werten wurde von nun an eine rechtsventrikuläre Nachlast von 5 cm H₂O simuliert und diese alle fünf Minuten bis zum Versuchsende um denselben Wert erhöht. Das bei der jeweiligen Nachlast vom rechten Ventrikel ausgeworfene Blutvolumen (Cardiac Output; ml/min) und die Herzfrequenz wurden bestimmt und protokolliert. Aus den ermittelten Werten für den Cardiac Output wurde der Cardiac Index (CI) der einzelnen Versuchsgruppen für jede Nachlasthöhe bestimmt. Die Bestimmung erfolgte nach der allgemeinen Formel für den CI mit $CO/KOF = CI$ in l/min x m². Die Körperoberflächen (KOF) der Ratten wurden dabei nach der gebräuchlichen Formel für Laborratten $10,5 \times (KG \text{ in g})^{2/3}$ nach Sharp und LaRegina berechnet (Sharp und LaRegina, 2000). Der Cardiac Index wurde für jedes Versuchstier der einzelnen Gruppen bezogen auf das jeweilige Körpergewicht berechnet. Der Schlagvolumenindex (SVI in l x m⁻²) als Maß des auf die Herzfrequenz (HF) bezogenen Cardiac Index (CI) wurde nach folgender Formel berechnet: $SVI(l \times m^{-2}) = CI \times HF^{-1}$.

Bei einer Auswurfleistung von weniger als 5 ml/min oder einer Frequenz von über 250/min erfolgte der Versuchsabbruch, ansonsten wurden die Herzen bis zu einer Nachlast von 40 cm H₂O reperfundiert.

Nach Erfüllung der Abbruchskriterien wurde jeweils das rechte Herz durch einen Schnitt entlang des Ramus interventricularis anterior vom linken Herzen separiert und beide Anteile unmittelbar im Anschluss getrennt in flüssigem Stickstoff schockgefroren.

5.3 Experimentelle Gruppen

Um eine sichere statistische Auswertung zu gewährleisten bestanden alle Versuchsgruppen aus 10 Tieren, wobei sich die Gruppen folgendermaßen einteilten:

| | | |
|---------------------------|---|--|
| Studiengruppe I: | Kontrollgruppe, keine pharmakologische Beeinflussung | |
| Studiengruppe II: | Adrenalin | (0,5 µg/kg/min) |
| Studiengruppe III: | Milrinon | (0,5 µg/kg/min) |
| Studiengruppe IV: | Adrenalin | (0,5 µg/kg/min) + Milrinon (0,5 µg/kg/min) |
| Studiengruppe V: | Adrenalin | (0,25 µg/kg/min) + Milrinon (0,5 µg/kg/min) |

In Studiengruppe IV wurde die Kombination beider Medikamente in der erprobten Dosierung hinsichtlich des Erreichens oder auch der Verbesserung der Einzelwirkungen überprüft. Um die Wirkung der Substanzkombination besser beurteilen zu können wurde in der Studiengruppe V die Adrenalindosis halbiert.

6 Ergebnisse

6.1 Cardiac Output, Cardiac Index, Herzfrequenz und Schlagvolumenindex

In der Tabelle 4 sind die Mittelwerte und die Standardfehler der Mittelwerte (SEM) des Cardiac Output für die verschiedenen Nachlasten dargestellt:

6.2 Tabelle 4: Mittelwerte und Standardabweichung der Mittelwerte des CO

| Nachlast: | 5 cm H ₂ O | 10 cm H ₂ O | 15 cm H ₂ O | 20 cm H ₂ O | 25 cm H ₂ O |
|-------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Gruppe: | | | | | |
| Kontrolle | 1,35 +/- 1,86 | 0,50 +/- 1,58 | 0,30 +/- 0,95 | - | - |
| Adrenalin | 7,20 +/- 3,67 | 5,40 +/- 2,63 | 3,20 +/- 3,01 | 1,40 +/- 1,84 | - |
| Milrinon | 5,80 +/- 2,74 | 2,10 +/- 2,38 | 0,40 +/- 0,84 | - | - |
| A+M | 10,30 +/- 2,58 | 8,70 +/- 1,55 | 6,00 +/- 1,56 | 2,70 +/- 1,89 | 0,60 +/- 1,26 |
| A+M (0,5/1) | 6,50 +/- 1,87 | 4,70 +/- 3,06 | 2,80 +/- 2,48 | - | - |

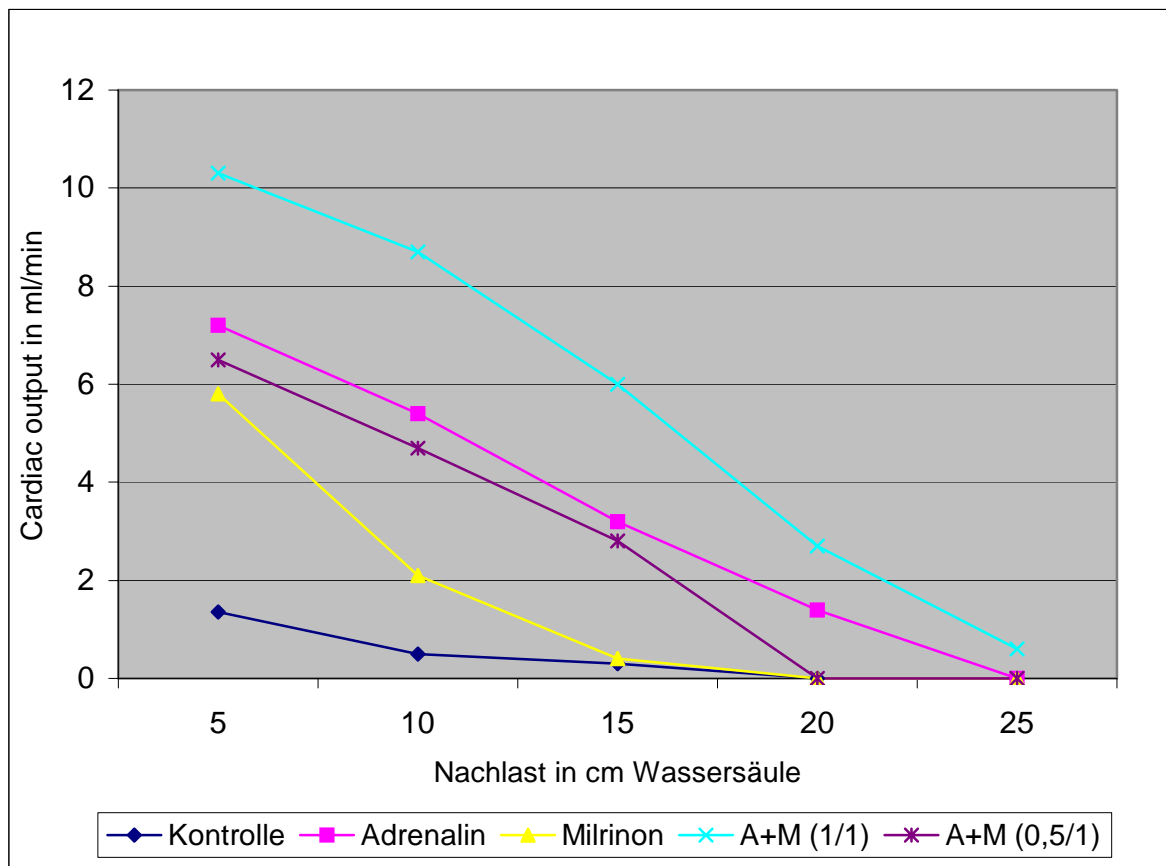
Angabe des Cardiac Output in ml/min

A+M : Adrenalin und Milrinon in äquimolarer Dosierung von je 0,5 µg/kg/min

A+M (0,5/1): Halbierte Adrenalindosis (0,25 µg/kg/min) + Milrinon (0,5 µg/kg/min)

In der folgenden Abbildung 6 sind die Werte des Cardiac Output grafisch dargestellt:

6.3 Abbildung 6: Cardiac Output der Versuchsgruppen



A+M (1/1): Adrenalin und Milrinon in äquimolarer Dosierung von je $0,5 \mu\text{g/kg/min}$

A+M (0,5/1): Halbierte Adrenalindosis ($0,25 \mu\text{g/kg/min}$) + Milrinon ($0,5 \mu\text{g/kg/min}$)

Wie die Tabelle und die Abbildung für den Cardiac Output zeigen, wurden die besten Ergebnisse durch die gemeinsame Applikation von Adrenalin und Milrinon jeweils in einer Dosierung von $0,5 \mu\text{g/kg/min}$ erreicht. Der höchste Wert findet sich mit $10,3 \text{ ml/min}$ bei einer Nachlast von $5 \text{ cm H}_2\text{O}$, bei stufenweiser Erhöhung der Nachlast fanden sich in allen Versuchsgruppen fallende Werte. Während die Herzen dieser Versuchsgruppe bei einer Nachlast von $25 \text{ cm H}_2\text{O}$ noch einen CO von $0,6 \text{ ml/min}$ zeigten, waren bei den Versuchsgruppen Nr. I (Kontrolle), III (Milrinon) und V (Adrenalin + Milrinon mit halbiertem Adrenalin) bei einer Nachlast von $20 \text{ cm H}_2\text{O}$ bereits die Abbruchskriterien erfüllt.

Als zweitstärkste Gruppe stellt sich mit einem CO von 7,2 ml/min bei einer Nachlast von 5 cm H₂O die Studiengruppe II (Adrenalin 0,5 µg/kg/min) dar. Während bei der Studiengruppe V bis zu einer Nachlast von 20 cm H₂O ähnlich hohe Werte zu beobachten waren, führte die alleinige Applikation von Milrinon bei allen Nachlasthöhen zu deutlich schlechteren Ergebnissen. Der niedrigste Wert bei einer Nachlast von 5 cm H₂O wurde mit 1,35 ml/min bei der Kontrollgruppe beobachtet. Auch fällt auf, dass vor allem die Werte der Kontrollgruppe eine sehr hohe Standardabweichung aufweisen.

Die Mittelwerte und die Standardmessfehler der Mittelwerte der Herzfrequenz sind der folgenden Tabelle 5 zu entnehmen, eine grafische Darstellung der Werte erfolgt in Abbildung Nr. 7.

6.4 Tabelle 5: Mittelwerte und Standardabweichung der Mittelwerte der HF

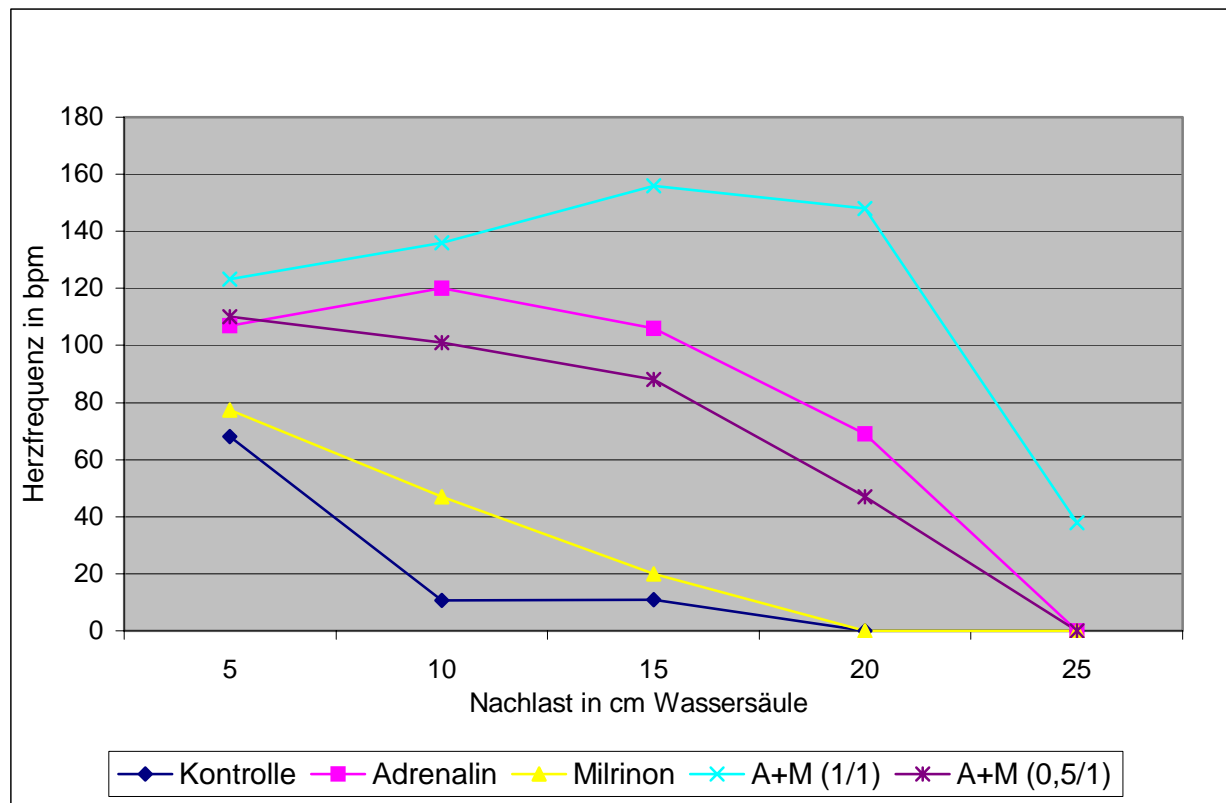
| Nachlast: | 5 cm H ₂ O | 10 cm H ₂ O | 15 cm H ₂ O | 20 cm H ₂ O | 25 cm H ₂ O |
|-------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Gruppe: | | | | | |
| Kontrolle | 68,0 +/- 53,4 | 10,7 +/- 33,8 | 11,0 +/- 34,8 | - | - |
| Adrenalin | 106,8 +/- 18,2 | 120,0 +/- 49,9 | 106,0 +/- 78,4 | 69,0 +/- 102,2 | - |
| Milrinon | 77,5 +/- 18,1 | 47,0 +/- 50,6 | 20,0 +/- 42,4 | - | - |
| A+M | 123,3 +/- 29,2 | 136,0 +/- 33,7 | 156,0 +/- 44,0 | 148,0 +/- 81,6 | 38,0 +/- 80,2 |
| A+M (0,5/1) | 110,0 +/- 21,1 | 101,0 +/- 58,8 | 88,0 +/- 76,7 | 47,0 +/- 79,1 | - |

Angabe der Herzfrequenz in Schläge pro Minute (bpm)

A+M : Adrenalin und Milrinon in äquimolarer Dosierung von je 0,5 µg/kg/min

A+M (0,5/1): Halbierte Adrenalinosis (0,25 µg/kg/min) + Milrinon (0,5 µg/kg/min)

6.5 Abbildung 7: Herzfrequenz der Versuchsgruppen



A+M (1/1): Adrenalin und Milrinon in äquimolarer Dosierung von je 0,5 $\mu\text{g/kg/min}$

A+M (0,5/1): Halbierte Adrenalindosis (0,25 $\mu\text{g/kg/min}$) + Milrinon (0,5 $\mu\text{g/kg/min}$)

Der Verlauf der Herzfrequenz verhält sich ähnlich wie der Verlauf des Cardiac Output. Auch hier wurden die höchsten Werte bei gemeinsamer Applikation von Adrenalin und Milrinon jeweils in einer Dosierung von 0,5 µg/kg/min erreicht. Die höchste Herzfrequenz wurde in dieser Gruppe mit 156 bpm bei einer Nachlast von 15 cm H₂O erreicht. Obwohl die Herzfrequenz in dieser Gruppe bei einer Nachlast von 20 cm H₂O noch 148 bpm betrug, fiel sie bei 25 cm H₂O auf 38 bpm ab. Während die Adrenalingruppe mit einer Herzfrequenz von 69 bpm bei einer Nachlast von 20 cm H₂O die zweitstärkste Gruppe darstellte, erfüllten die Herzen der Kontrollgruppe und der Gruppe mit alleiniger Milrinonapplikation bei dieser Nachlasthöhe bereits die Abbruchkriterien. Nach der Applikation von Adrenalin und Milrinon mit halbierter Adrenalindosis unterscheiden sich die Werte der Herzfrequenz nicht deutlich von der Studiengruppe mit alleiniger Adrenalinapplikation, auch der Kurvenverlauf ist ähnlich. Als schwächste Gruppe stellt sich wiederum die Kontrollgruppe dar, deren Herzen selbst bei einer Nachlast von 5 cm H₂O nur eine durchschnittliche Herzfrequenz von 68 bpm zeigten, die bei 10 cm H₂O auf 10,7 bpm abfiel.

In Tabelle 6 sind die Mittelwerte des Cardiac Index mit dem zugehörigen Standardfehler des Mittelwertes aufgeführt. Zur grafischen Darstellung, die der Abbildung Nr.8 zu entnehmen ist, wurde der mittlere Cardiac Index der einzelnen Versuchsgruppen wegen der besseren Anschaulichkeit der Ergebnisse in $\text{ml/min} \times \text{cm}^2$ umgerechnet.

6.6 Tabelle 6: Mittelwerte und Standardabweichung der Mittelwerte des CI

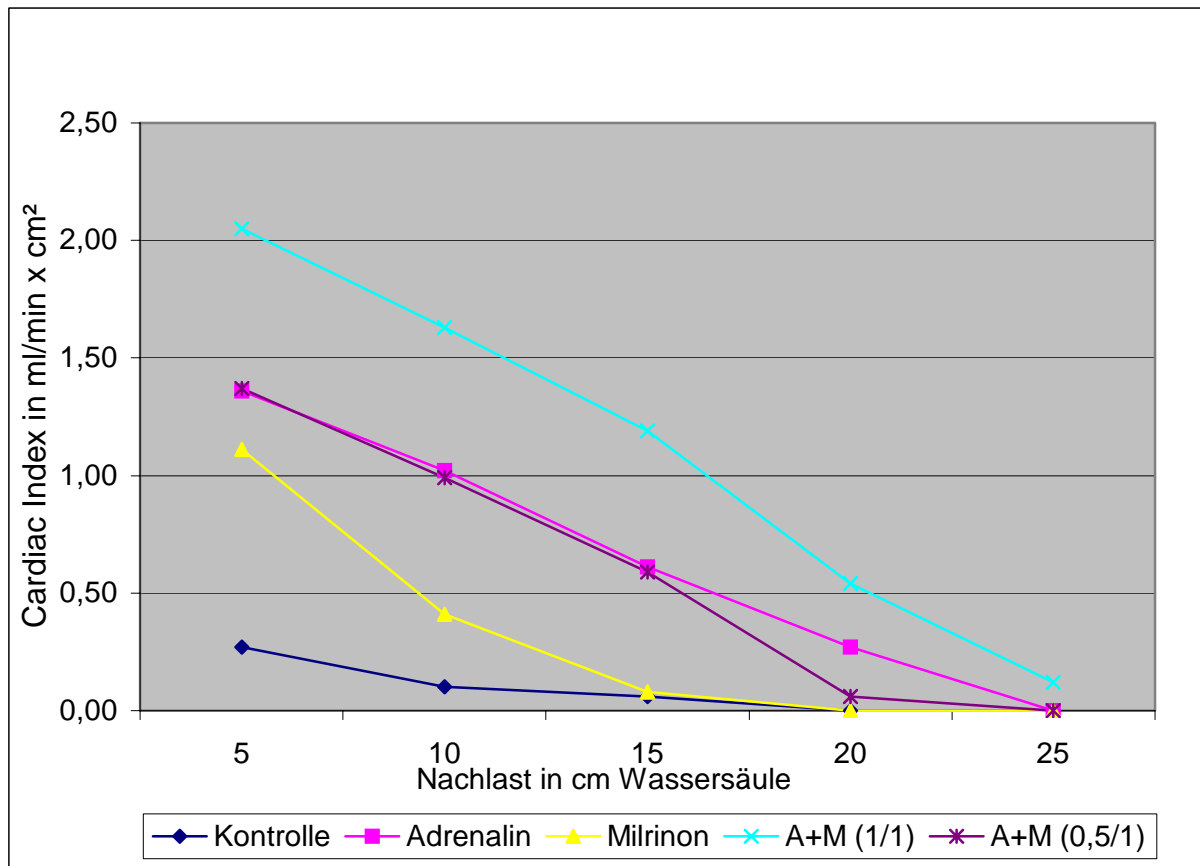
| Nachlast: | 5 cm H ₂ O | 10 cm H ₂ O | 15 cm H ₂ O | 20 cm H ₂ O | 25 cm H ₂ O |
|-------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Gruppe: | | | | | |
| Kontrolle | 0,27 +/- 0,37 | 0,10 +/- 0,32 | 0,06 +/- 0,19 | - | - |
| Adrenalin | 1,36 +/- 0,69 | 1,02 +/- 0,50 | 0,61 +/- 0,57 | 0,27 +/- 0,35 | - |
| Milrinon | 1,11 +/- 0,52 | 0,41 +/- 0,46 | 0,08 +/- 0,16 | - | - |
| A+M | 2,05 +/- 0,54 | 1,63 +/- 0,31 | 1,19 +/- 0,31 | 0,54 +/- 0,37 | 0,12 +/- 0,25 |
| A+M (0,5/1) | 1,37 +/- 0,39 | 0,99 +/- 0,64 | 0,59 +/- 0,52 | 0,06 +/- 0,14 | - |

Angabe der Werte in $\text{ml/min} \times \text{cm}^2$

A+M: Adrenalin und Milrinon in äquimolarer Dosierung von je 0,5 $\mu\text{g/kg/min}$

A+M (0,5/1): Halbierte Adrenalindosis (0,25 $\mu\text{g/kg/min}$) + Milrinon (0,5 $\mu\text{g/kg/min}$)

6.7 Abbildung 8: Cardiac Index der Versuchsgruppen



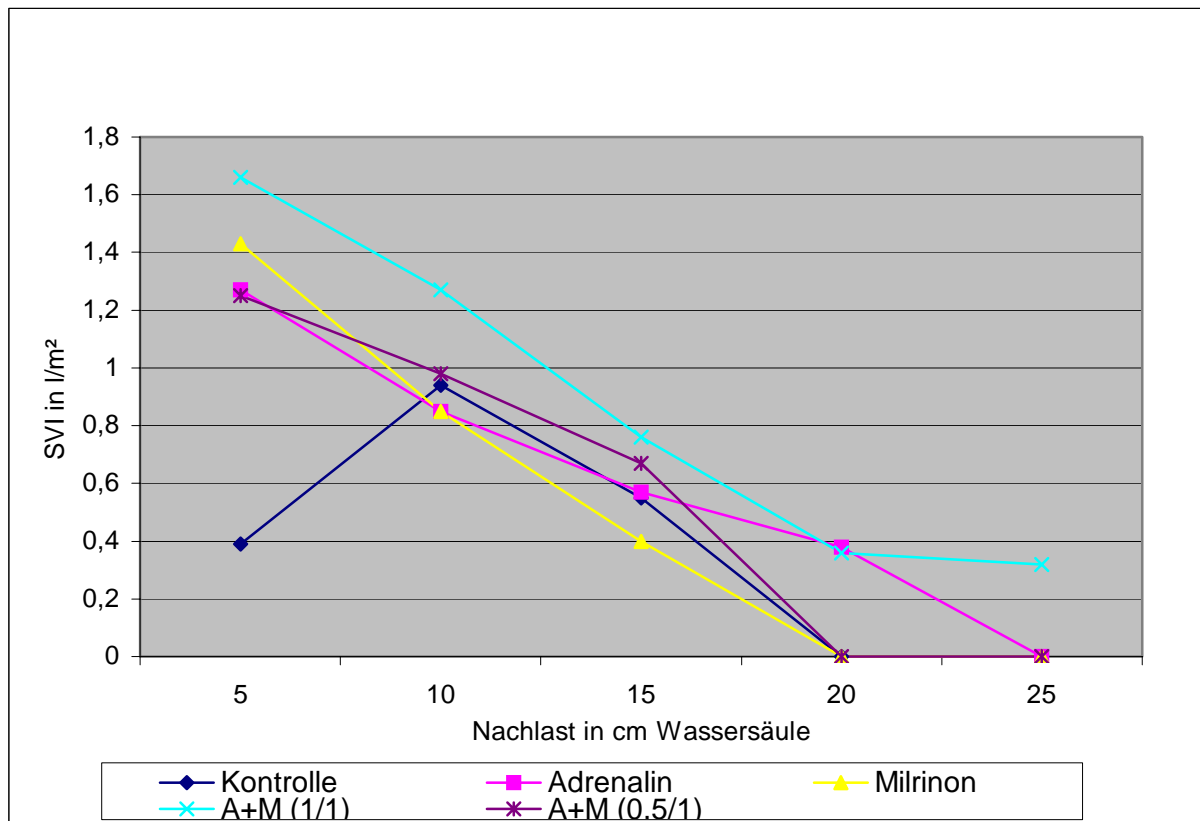
A+M (1/1): Adrenalin und Milrinon in äquimolarer Dosierung von je 0,5 µg/kg/min

A+M (0,5/1): Halbierte Adrenalindosis (0,25 µg/kg/min) + Milrinon (0,5 µg/kg/min)

Die Kurvenverläufe des Cardiac Index entsprechen in ihrer Tendenz denen des Cardiac Output. Bei allen Nachlasthöhen weisen die Herzen der Studiengruppe IV (Adrenalin und Milrinon in äquimolarer Dosierung von je 0,5 µg/kg/min) die höchsten Werte für den Cardiac Index auf, gefolgt von Studiengruppe II(alleinige Adrenalinapplikation) und Studiengruppe V (Halbierte Adrenalindosis (0,25 µg/kg/min) + Milrinon (0,5 µg/kg/min)). Bei Betrachtung der Werte des Cardiac Index wird besonders deutlich, dass dieser sich in den Studiengruppen II und V kaum unterscheidet.

Die Abbildung Nr. 9 stellt die Ergebnisse für den Schlagvolumenindex grafisch dar.

6.8 Abbildung 9: Schlagvolumenindex der Versuchsgruppen



A+M (1/1): Adrenalin und Milrinon in äquimolarer Dosierung von je 0,5 µg/kg/min

A+M (0,5/1): Halbierte Adrenalindosis (0,25 µg/kg/min) + Milrinon (0,5 µg/kg/min)

Eine zusammenfassende Darstellung der statistisch signifikanten Messergebnisse bei Vergleich des Cardiac Output und der Herzfrequenz der Versuchsgruppen untereinander ist den folgenden Tabellen Nr. 7 und Nr. 8 zu entnehmen:

6.9 Tabelle 7: Statistisch signifikante Messergebnisse des Cardiac Output

| Nachlast in mm H ₂ O | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 |
|---------------------------------|---|----|----|----|----|
| Gruppe: | | | | | |
| Kontrolle vs. Adrenalin | + | + | + | + | - |
| Kontrolle vs. Milrinon | + | + | - | - | - |
| Kontrolle vs. A + M | + | + | + | + | + |
| Kontrolle vs. A + M (0,5/1) | + | + | + | + | - |
| Adrenalin vs. Milrinon | - | + | + | + | - |
| Adrenalin vs. A + M | + | + | + | - | - |
| Adrenalin vs. A + M (0,5/1) | - | - | - | + | - |
| Milrinon vs. A + M | + | + | + | + | + |
| Milrinon vs. A + M (0,5/1) | + | + | + | + | - |

‘+’ entspricht $p < 0,05$ gegenüber der zugehörigen Gruppe

A + M: Adrenalin + Milrinon (0,5 µg/kg/min) / (0,5 µg/kg/min)

A + M (0,5/1): Adrenalin + Milrinon (0,25 µg/kg/min) / (0,5 µg/kg/min)

6.10 Tabelle 8: Statistisch signifikante Messergebnisse der Herzfrequenz

| Nachlast in mm H ₂ O | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 |
|---------------------------------|---|----|----|----|----|
| Gruppe: | | | | | |
| Kontrolle vs. Adrenalin | + | + | + | + | - |
| Kontrolle vs. Milrinon | + | + | - | - | - |
| Kontrolle vs. A + M | + | + | + | + | + |
| Kontrolle vs. A + M (0,5/1) | + | + | + | + | - |
| Adrenalin vs. Milrinon | + | + | + | + | - |
| Adrenalin vs. A + M | - | - | - | + | + |
| Adrenalin vs. A + M (0,5/1) | - | - | - | - | - |
| Milrinon vs. A + M | + | + | + | + | + |
| Milrinon vs. A + M (1/0,5) | + | + | + | + | - |

‘+’ entspricht $p < 0,05$ gegenüber der zugehörigen Gruppe

A + M: Adrenalin + Milrinon (0,5 µg/kg/min) / (0,5 µg/kg/min)

A + M (0,5/1): Adrenalin + Milrinon (0,25 µg/kg/min) / (0,5 µg/kg/min)

6.11 cAMP-Konzentration

Der Gehalt an zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) wurde für die Kontrollgruppe und für die Versuchsgruppe Nr. V (Adrenalin (0,25 µg/kg/min) + Milrinon (0,5 µg/kg/min)) jeweils getrennt für den rechten und linken Ventrikel bestimmt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen der cAMP-Konzentration können der folgenden Tabelle 9 entnommen werden, eine grafische Darstellung der Mittelwerte erfolgt in Abbildung 10.

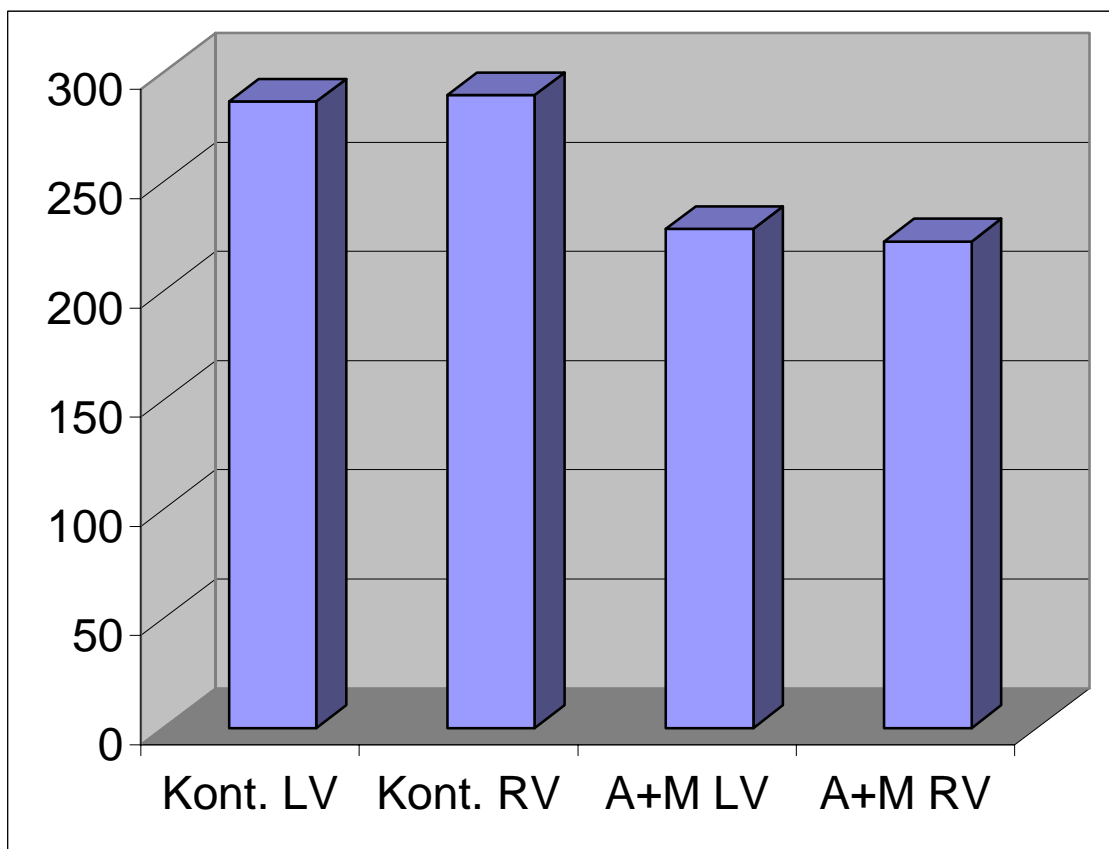
6.12 Tabelle 9: Mittelwerte und Standardabweichungen der cAMP-Konzentration

| Gruppe | Konzentration in pmol/mg Trockengewicht |
|----------------|---|
| Kontrolle LV | 286,75 +/- 18,54 |
| Kontrolle RV | 289,55 +/- 11,21 |
| A+M (0,5/1) LV | 228,45 +/- 33,29 |
| A+M (0,5/1) RV | 222,7 +/- 24,23 |

A + M (0,5/1): Adrenalin + Milrinon (0,25 µg/kg/min) / (0,5 µg/kg/min)

LV: Linker Ventrikel ; RV: Rechter Ventrikel

6.13 Abbildung 10: cAMP-Konzentration in pmol/mg Trockengewicht



A + M: Adrenalin + Milrinon (0,25 $\mu\text{g/kg/min}$) / (0,5 $\mu\text{g/kg/min}$)

LV: Linker Ventrikel ; RV: Rechter Ventrikel

Wie Tabelle 9 und Abbildung 10 zeigen fanden sich in der immunbiochemischen Bestimmung der cAMP-Konzentration die höchsten Werte in den Herzen der Kontrollgruppe, wobei die Konzentration im Myokard des rechten Ventrikels mit 289,55 pmol/mg Trockengewicht nur unwesentlich höher lag als im nichtbelasteten linken Ventrikels, dessen Myokard eine mittlere cAMP-Konzentration von 286,75 pmol/mg Trockengewicht aufwies. Im Vergleich zur Kontrollgruppe wiesen die Herzen der Gruppe mit kombinierter Adrenalin- und Milrinonapplikation sowohl im rechten als auch im linken Ventrikel niedrigere Werte auf, wobei der Unterschied zwischen den beiden Ventrikeln ähnlich gering ausfiel wie in der Kontrollgruppe. In der statistischen Auswertung ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Werten.

7 Diskussion:

Viele Arbeitsgruppen haben sich bereits mit dem akuten Rechtsherzversagen und dessen Therapie beschäftigt. Was die Ätiologie und die Pathophysiologie dieses Krankheitsbildes betrifft, als auch bezüglich Diagnosestellung und Therapie gibt es verschiedene Ansätze. Da sich die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unmittelbar auf die verschiedenen Therapiestrategien beziehen respektive diese ergänzen, werden zu Beginn der Diskussion noch einige neuere Arbeiten aus diesem Themengebiet zusammengefasst.

7.1 Pathophysiologie und Therapie der Herzinsuffizienz

Mit der Genese der akuten rechtsventrikulären Dysfunktion nach Herztransplantation beschäftigten sich unter anderem Bittner et al., der speziell die Einflüsse des Hirntodes des Spenders und einer präexistierenden pulmonalen Hypertension des Transplantatempfängers untersuchte (Bittner et al., 1999). In einer tierexperimentellen Studie an Hunden führte er in drei verschiedenen Versuchsgruppen bicavale orthotope Herztransplantationen durch, wobei in der erste Gruppe Herzen von hirntoten Spendern in Empfänger ohne pulmonale Hypertension transplantiert wurden. In der zweiten Gruppe wurden die Herzen hirnvitalen Spendern entnommen und Empfängern mit einer durch Monocrotalinpyrrol induzierten pulmonalen Hypertension implantiert. Eine dritte Gruppe mit hirnvitalen Spendern und Empfängern, welche normale pulmonale hämodynamische Verhältnisse aufwiesen, stellte die Kontrolle dar. Bittner bestimmte die rechtsventrikuläre Funktion des Transplantatherzens jeweils vor Transplantation und Hirntod, vier Stunden nach dem Hirntod des Spenders und nach der Transplantation. Dabei kam er zu dem Ergebnis, dass sich die Herzen der hirnvitalen Spender durch eine Steigerung des rechtsventrikulären Schlagvolumens und der Kontraktilität sofort einem präexistentiellen pulmonalen Hochdruck der Empfänger anpassten, dass aber die Transplantation der Herzen von hirntoten Spendern zu einer signifikanten rechtsventrikulären Dysfunktion führte. Aufgrund dieser Ergebnisse postulierte er, dass die Entstehung einer Rechtsherzinsuffizienz nach Transplantation primär vom Status des Spenderherzens abhängt, wobei er die hämodynamische Situation des Empfängers als auch Einflüsse der Herz-Lungen-Maschine (HLM) außer Acht ließ.

Einen wichtigen Überblick über die Ätiologie der rechtsventrikulären Insuffizienz gibt Zwissler (Zwissler B, 2000), der sich in seiner Arbeit auf eine Vielzahl tierexperimenteller und klinischer Studien zu diesem Thema bezieht. Grundlage seiner Überlegungen ist die Annahme, dass die akute Rechtsherzinsuffizienz durch eine myokardiale Ischämie oder einen pulmonalen Hochdruck ausgelöst wird. Die Ursachen der rechtsventrikulären Dysfunktion speziell in der Kardiochirurgie sieht Zwissler in einer pulmonalen Hypertension nach extrakorporaler Zirkulation (EKZ) sowie in einer inadäquaten Protektion des rechtsventrikulären Myokards. Als weitere ursächliche Faktoren nennt er eine ungenügende Revaskularisierung des Herzmuskels, eine Überdehnung des rechten Ventrikels beim Abgang von der EKZ und koronare Luftembolien. Die Insuffizienz ist durch eine Dilatation des rechten Ventrikels charakterisiert, die von einem Anstieg der Wandspannung und des O₂ Verbrauchs begleitet wird. Die Dilatation führt ihrerseits zu einem Abfall der rechtsventrikulären Ejektionsfraktion. Zwissler bemerkt weiterhin, dass eine kausale Therapie der akuten Rechtsherzinsuffizienz noch nicht verfügbar ist, und weist deshalb besonders auf die verschiedenen symptomatischen Therapiestrategien hin. Diese basieren nach ihm auf vier Prinzipien:

Einer Optimierung der Vorlastsituation wird von Zwissler besondere Bedeutung zugemessen, da die Ursache der Insuffizienz des rechten Ventrikels meist eine erhöhte Vorlast ist, die sich über eine Erhöhung der Wandspannung negativ auf das Schlagvolumen auswirkt.

Als zweiten Angriffspunkt führt er den Blutdruck im Systemkreislauf an, der für die koronararterielle Perfusion und damit für die myokardiale Funktion ausschlaggebend ist. Ein kritischer Abfall des systemischen Blutdrucks würde zu kardialen Ischämien führen, die die Schlagfunktion des bereits insuffizienten Herzens noch weiter schwächen würde. Zur medikamentösen Steigerung des arteriellen Drucks stellt derzeit Noradrenalin das Medikament der Wahl dar.

Eine weitere therapeutische Option stellt die Reduktion der rechtsventrikulären Nachlast dar. Während der Einsatz von intravenösen Vasodilatoren durch das ungünstige Verhältnis zwischen der Dilatation der Pulmonalgefäße und gleichzeitig auftretenden systemischen Nebeneffekten begrenzt ist, führen inhalierbare Pharmaka zu einer selektiven Gefäßerweiterung im Niederdrucksystem und können so die Schlagarbeit des rechten Ventrikels günstig beeinflussen.

Als wichtigsten Punkt führt Zwissler die Erhöhung der rechtsventrikulären Kontraktilität durch Inotropika an, unter welchen Adrenalin und Dobutamin im klinischen Gebrauch in der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie der FSU Jena die Substanzen der Wahl

darstellen. Bezüglich der letzten beiden Punkte, der Senkung des pulmonalarteriellen Widerstandes und der Steigerung der Kontraktilität, bemerkt er, dass sich am besten Medikamente aus der Gruppe der Inodilatoren eignen, da diese sowohl zu einer Abnahme des pulmonalen Gefäßwiderstandes führen als auch einen positiv inotropen Effekt aufweisen (Zwissler B, 2000). Der Hauptvorteil dabei ist, dass durch die Gabe nur eines Medikamentes die unerwünschten Nebenwirkungen einer Substanzkombination verringert werden können. Die Arbeitsgruppe um Latifi bezeichnete die PDE-III-Inhibitoren Amrinon und vor allem Milrinon als die effektivsten Medikamente dieser Gruppe (Latifi et al., 2000). Latifi hob vor allem hervor, dass die positiven Milrinoneffekte ohne eine Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs einhergehen, während die positive Lusitropie die Relaxation eines hypertrophierten Herzmuskels verstärken kann. Bei der klinischen Anwendung sollte Milrinon Amrinon vor allem wegen der höheren therapeutischen Breite und der kürzeren Halbwertszeit und der daraus resultierenden besseren Steuerbarkeit vorgezogen werden. Bezüglich der Optimierung des Cardiac Output bei Patienten mit akutem Rechtsherzversagen gibt es durchaus auch kontroverse Meinungen. Nach der Meinung von Kleber sollten positiv inotrop wirkende Medikamente erst eingesetzt werden, wenn eine Senkung von Vor- und Nachlast nicht zu einer Verbesserung der Herzleistung geführt hat (Kleber, 1999). Für die bedeutendsten Therapieoptionen hält er die intravenöse oder inhalative Anwendung von Prostaglandinen oder Stickstoffmonoxid (NO), weist aber auch der Gabe vasoaktiver oder vasoinaktiver positiv inotroper Medikamente wie Katecholamine und Phosphodiesterasehemmer eine große Bedeutung zu. Weiterhin erwähnt er die Anwendbarkeit intraaortaler Ballonpumpen, links- oder biventrikulärer Assist-Systeme und perkutan oder chirurgisch anzuschließender Blutpumpen um die Herzfunktion zu unterstützen. Kleber erscheint es dabei besonders wichtig, eine sinnvolle Kombination der medikamentösen Strategien mit den chirurgischen oder kardiologisch-interventionellen Maßnahmen durchzuführen, um einen optimalen Therapieerfolg zu erreichen.

7.2 Diskussion des Modells

In der Kardiovaskularchirurgie ist die komplexe Beziehung des rechten Ventrikels zur Lungenstrombahn seit vielen Jahren Gegenstand intensiver experimenteller Forschung (Krieg et al., 1998). Aufwendige Großtiermodelle zeichnen sich dabei durch eine Vielzahl ableitbarer Parameter aus, welche in Kleintiermodellen schwieriger zu erheben sind, wie zum Beispiel verschiedene Druckparameter (Spalding et al., 2000). Solche Versuche zeichnen sich

allerdings durch einen so hohen Komplexitätsgrad aus, dass Fehlerquellen möglicherweise nicht erkannt werden und diese die Ergebnisse verfälschen können. Einfache Kleintiermodelle erlauben nur eine reduzierte Datenerfassung, sind aber robuster, leichter handhabbar und für die Erhebung der Daten gemäß der Fragestellung der vorliegenden Arbeit sehr gut geeignet. Für hämodynamische und pharmakologische Untersuchungen an Rattenherzen haben sich vor allem verschiedene Kreislaufmodelle bewährt, deren Prinzip auf Langendorff zurückgeht. Wegen der einfachen Handhabbarkeit und außerordentlichen Stabilität dieses Systems wurde und wird es von zahlreichen Arbeitsgruppen auch für sehr komplexe Untersuchungen wie etwa die Transplantation von Rattenherzen verwendet (Asfour et al., 1999) und positiv bewertet (Ashruf et al., 1999; Nygren et al., 2002).

Mit dem von uns verwendeten rechtsventrikulär arbeitenden modifizierten Langendorff-Modell der Ratte konnte bereits gezeigt werden, dass der rechte Ventrikel signifikanten Nachlast erhöhungen gewachsen ist. Mit Hilfe dieses Modells ist sowohl die Perfusion im „Langendorff-Modus“ als auch im „Working-Heart-Modus“ möglich. Die Stabilität des Modells erlaubte bereits eine Überprüfung verschiedener Kardioplegie-Regime bei simulierter Trendelenburg-Operation der akuten Lungenembolie. Dieses Modell ist einfach, robust und im Hinblick auf die rechtsventrikuläre Funktion aussagekräftig (Albes et al., 1994). Die kontinuierliche koronararterielle Perfusion über die Aortenwurzel mit oxygenierter gepufferter erythrozytenhaltiger Perfusionslösung erlaubt überdies eine einfache und sichere Applikation von Pharmaka wie PDE-Inhibitoren oder Katecholaminen. Ein weiterer Vorteil des verwendeten Modells ist, dass Abweichungen der Blutgase und Änderungen im pH-Wert der Reperfusionslösung einfach und schnell durch Änderung der Kohlendioxidzufuhr über den Oxygenator ausgeglichen werden können.

7.3 Diskussion der Ergebnisse

Betrachtet man die Ergebnisse unserer tierexperimentellen Studie, so können über die Effekte des Phosphodiesterase-III-Inhibitors Milrinon folgende Aussagen getroffen werden, die möglicherweise Benefit bezüglich der Therapie des rechtsventrikulären Herzversagens bringen können:

7.4 Diskussion des Cardiac Output und der Herzfrequenz

Sowohl der mittlere Cardiac Output (CO) als auch die Mittelwerte der Herzfrequenz (HF) der Kontrollgruppe machen im Vergleich mit den Normalwerten einer Ratte von 300 g (CO 100-

150 ml/min; HF 300 – 500 bpm) (Sharp und LaRegina, 2000) ohne pathologisch erhöhte Nachlast die schwere postischämische rechtsventrikuläre Insuffizienz deutlich. Die hohen Standardabweichungen der Kontrollgruppe sind das Resultat einer äußerst inkonstanten Schlagfunktion des Herzens, die besonders in dieser Studiengruppe beobachtet wurde. Tabelle Nr. 4 und Abbildung 4 machen deutlich, dass der niedrige Cardiac Output der Kontrollgruppe, der das Resultat einer schweren postischämischen Rechtsherzinsuffizienz darstellt, am stärksten durch die Kombination von Adrenalin und Milrinon in einer Konzentration von jeweils 0,5 µg/kg/min erhöht werden kann. Am deutlichsten ist diese Erhöhung bei einer Nachlast von 10 cm H₂O ausgeprägt, wo sie 1740 % Prozent beträgt. Aber auch bei den übrigen Nachlasthöhen kommt die Überlegenheit dieser Kombination gegenüber der Kontrolle zum Ausdruck, was besonders auch die Betrachtung des Cardiac Index deutlich macht. In Bezug auf die Herzfrequenz ist bei jeder Nachlasthöhe ein deutlicher Anstieg zu verzeichnen. Insofern können die Ergebnisse von Canver et al., der den Benefit einer Kombination von Milrinon mit anderen positiv inotropen Substanzen in der präoperativen Langzeitversorgung von Herztransplantationskandidaten nachwies (Canver und Chanda, 2000), auf den postoperativen, postischämischen Bereich erweitert werden. Auch die gemeinsame Applikation von Adrenalin (0,25 µg/kg/min) + Milrinon (0,5 µg/kg/min) ergibt bezüglich Cardiac output und Herzfrequenz deutlich bessere Ergebnisse als die Kontrollgruppe, unterscheidet sich allerdings nicht signifikant von der alleinigen Gabe von Adrenalin in einer Dosierung von 0,5 µg/kg/min. Auch die alleinige Applikation von Milrinon (0,5 µg/kg/min) bewirkte keine so starke Steigerung von CO und HF wie Adrenalin, führte aber sehr wohl zu einer günstigeren hämodynamischen Situation als sie die Herzen ohne pharmakologische Beeinflussung zeigten. Besonders bei Betrachtung der Werte des Cardiac Output fällt auf, dass bei einer relativ niedrigen Nachlast von 5 cm Wassersäule durch die alleinige Milrinonapplikation eine vergleichbar starke Herzfunktion wie unter alleiniger Adrenalingabe und unter Kombinationsgabe von Adrenalin (0,25 µg/kg/min) + Milrinon (0,5 µg/kg/min) zustande kommt. Während bei höheren Nachlasten die Werte des Cardiac Output unter alleiniger Milrinongabe stetig abfallen, entsprechen die Werte bei kombinierter Gabe von Adrenalin und Milrinon (0,25/0,5 µg/kg/min) ungefähr den Werten bei einer Adrenalinapplikation von 0,5 µg/kg/min, was deutlich macht, dass der Einspareffekt von Adrenalin durch die gleichzeitige Milrinongabe vor allem bei höheren Nachlasten beobachtet werden kann.

Dieser positive Einfluss von Milrinon auf die Pumpfunktion des Herzens wurde bereits in vielen Studien nachgewiesen. So fand zum Beispiel die Arbeitsgruppe um Pridjian nach

postischämischer Reperfusion von isolierten Kaninchenherzen (linker und rechter Ventrikel) einen signifikanten Anstieg des Cardiac Output und des cAMP-Gehalts (Pridjian et al., 1995). Die Dauer der Ischämie betrug bei diesen Versuchen allerdings nur eine Stunde, außerdem erfolgte sie unter normothermen Bedingungen. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch Kikura et al., der die Wirkung von Milrinon an 37 Patienten nach herzchirurgischen Eingriffen evaluierte (Kikura et al., 1997). Bezüglich der rechtsventrikulären Funktion und besonders der pulmonalarteriellen Hämodynamik beobachteten auch Chen et al. positive Milrinoneffekte. Diese Arbeitsgruppe induzierte an Hunden durch die rechtsatriale Injektion von Monocrotalinpyrrol eine pulmonale Hypertension und beurteilte die rechtsventrikuläre Schlagfunktion und den pulmonalarteriellen Widerstand vor Versuchsbeginn und nach 6 Wochen mittels Pulmonalarterienkatheterisierung. Im Vergleich zur Kontrollgruppe fanden sie nach Milrinonapplikation signifikante Anstiege in der rechtsventrikulären Funktion und Verbesserungen der pulmonalarteriellen Resistance, des pulmonalen Blutflusses und der linksventrikulären Blutfüllung (Chen et al., 1997).

7.5 Diskussion des Cardiac Index und des Schlagvolumenindex

Bei Betrachtung der Abbildung des Cardiac Index der Versuchsgruppen (Abbildung 6) findet man in etwa dieselben Kurvenverläufe wie beim Cardiac Output, da dessen Wert in die Berechnung des Cardiac Index (CI) miteingeht. Es kommt jedoch noch deutlicher zum Ausdruck, dass der die Herzleistung charakterisierende CI unter alleiniger Adrenalingabe und unter Gabe von Adrenalin ($0,25 \mu\text{g/kg/min}$) + Milrinon ($0,5 \mu\text{g/kg/min}$) ähnlich hohe Werte annimmt, besonders bis zu einer Nachlast von 15 cm Wassersäule, was wiederum bestätigt, dass der Katecholamineinspareffekt von Milrinon besonders bei mittleren Nachlasthöhen gegeben ist. Bei höheren Nachlasten nimmt die Kurve von Adrenalin und Milrinon ($0,25/0,50 \mu\text{g/kg/min}$) einen steileren Verlauf, die Werte unterscheiden sich allerdings nicht signifikant. Der Verlauf der Kurve unter alleiniger Milrinonapplikation macht im Vergleich zur Kontrollgruppe die starke positiv inotrope Wirksamkeit dieser Substanz deutlich, die aber bei keiner Nachlasthöhe so stark ausgeprägt ist wie die Wirkung des Katecholamins Adrenalin. Der steil abfallende Kurvenverlauf ab einer Nachlast > 5 cm Wassersäule macht deutlich, dass eine monotherapeutische Gabe von Milrinon im Vergleich mit Katecholaminen von deutlich geringerem Nutzen ist. Bei sehr hoher Nachlast (25 cm Wassersäule) ist es nur durch die gemeinsame Verabreichung von Adrenalin ($0,5 \mu\text{g/kg/min}$) + Milrinon ($0,5 \mu\text{g/kg/min}$)

möglich gewesen die Herzschlagfunktion aufrechtzuerhalten, jedoch mit einer sehr eingeschränkten hämodynamischen Funktion, was auch die Betrachtung des Cardiac Output bei dieser Nachlasthöhe deutlich macht. Es ist anzunehmen, dass bei einer derart erhöhten Nachlastsituation die Kontraktionsfähigkeit und Kontraktionskraft der Herzmuskelzellen durch Pharmaka nicht weiter gesteigert werden kann. Dieses starke Nachlassen der myokardialen Kontraktilität insuffizienter Herzen bei steigenden Nachlasthöhen ist seit langem bekannt und in zahlreichen Studien untersucht. Dieser Abfall der Herzleistung wird einerseits auf eine Herzdilatation bei akuter Erhöhung der Nachlast und damit insuffizienter Interaktionsfähigkeit der myofibrillären Elemente Aktin und Myosin zurückgeführt, andererseits ist auch bekannt, dass sowohl eine chronische als auch eine akute Herzinsuffizienz zu Strukturschäden besonders der Aktinfilamente führt, die ihrerseits für ein weiteres Fortschreiten der Insuffizienz mitverantwortlich sind (Karsanov et al., 2001). Über Änderungen im Myosinstoffwechsel und einer Herabsetzung der Aktivität der sarkoplasmatischen ATPase, was zu einer erniedrigten Kalziumverfügbarkeit während des Kontraktionsvorganges insuffizienter Herzen führt, wurde ebenfalls berichtet, wobei die genaue Bedeutung dieser Faktoren noch im Unklaren liegt (Chiariello und Perrone-Filardi, 1999).

Auch bei der Beurteilung des Schlagvolumenindex (Abbildung 9) finden sich in etwa dieselben Trends wie beim Cardiac Output, obwohl die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen nicht so deutlich ausgeprägt sind wie bei den anderen gemessenen und errechneten Parametern. Besonders fällt auf, dass die Kurve der Kontrollgruppe einen nicht zu erwartenden Verlauf nimmt. Der Anstieg des Schlagvolumenindex bei einer Nachlast von 10 cm Wassersäule und der darauffolgende steile Abfall kann dadurch erklärt werden, dass besonders der Cardiac output der Kontrollgruppe nicht sehr stark mit der Herzfrequenz korreliert war. Dies kann als weiterer Ausdruck der postischämischen Rechtsherzinsuffizienz gewertet werden, da die Herzen mit pharmakologischer Beeinflussung diese mangelnde Korrelation nicht in diesem Maße aufwiesen.

7.6 Diskussion der ermittelten cAMP-Konzentrationen

Die Verbesserung der hämodynamischen Parameter bei den pharmakologisch beeinflussten Gruppen lassen im Vergleich zur Kontrollgruppe einen Anstieg des cAMP-Gehalts im Myokard des rechten Ventrikels erwarten. Dieser Anstieg konnte durch die

immunhistochemische Aufarbeitung und Untersuchung nicht nachgewiesen werden. Nach statistischer Auswertung ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Insofern korrelieren die hämodynamischen Parameter Cardiac Output und Herzfrequenz bei den Herzen mit pharmakologischer Beeinflussung durch Adrenalin und Milrinon nicht mit den ermittelten Werten für die cAMP-Konzentrationen, die deutlich höher als diejenigen der Kontrollgruppe ausfallen müssten. Dies kann zum einen daran liegen, dass cAMP ein sehr labiler second-messenger mit kurzer Halbwertszeit ist, der im vitalen Gewebe durch die Phosphodiesterase-III einem schnellen Abbau zu AMP (Adenosinmonophosphat) unterliegt. Zum anderen ist bekannt, dass es sich bei der PDE-III um ein Enzym mit relativ hoher Wechselzahl handelt, was dazu geführt haben kann, dass der cAMP Gehalt in der Zeit vom Reperfusionsstop bis zum Gefrieren in flüssigem Stickstoff bei den einzelnen Herzen unterschiedlich stark abgesunken ist. Da die hämodynamischen Parameter Cardiac Output und Herzfrequenz in den Herzen mit pharmakologischer Beeinflussung aber signifikant höher lagen als in der Kontrollgruppe, ist anzunehmen, dass weitere Faktoren für den erniedrigten cAMP-Gehalt im Vergleich zur Kontrollgruppe verantwortlich sind. Eine Erklärung für dieses vermeintliche Paradoxon könnte darin zu suchen sein, dass die Herzen nach Adrenalin- und Milrinonbelastung eine deutlich längere Schlagzeit aufwiesen als die ohne pharmakologische Unterstützung. Dies könnte dazu geführt haben, dass das vom Phosphodiesteraseinhibitor Milrinon vermehrt zur Verfügung gestellte cAMP in einem relativ stärkerem Maße zur Kompensation der Insuffizienz verwertet wurde, was letztlich zu niedrigeren nachweisbaren Werten führte.

7.7 Schlussfolgerungen:

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse lassen folgende Schlüsse zu:

Der Anstieg des Cardiac Output nach Gabe von Milrinon bestätigt die bereits bekannte positiv inotrope Wirkung der Substanzklasse der Phosphodiesterase-III-Inhibitoren.

Die Ergebnisse machen weiterhin deutlich, dass die alleinige Applikation von Milrinon zumindest am isolierten Rattenherzen nach vierstündiger hypothermer Ischämie eine Katecholamingabe nicht ersetzen kann.

Aus dem Vergleich der hämodynamischen Werte der Gruppen Adrenalin (0,5 µg/kg/min) und Adrenalin (0,25 µg/kg/min) + Milrinon (0,5 µg/kg/min) geht hervor, dass besonders bei mittleren Nachlasthöhen durch die Anwendung des Phosphodiesterase-III-Inhibitors Milrinon Adrenalin eingespart werden kann, da zwischen beiden Applikationsschemata sowohl bezüglich Cardiac Output als auch der Herzfrequenz keine signifikanten Unterschiede bestehen. Der Hauptvorteil einer Einsparung von Adrenalin liegt darin, dass der durch Katecholamine bedingte starke Anstieg des Sauerstoffverbrauchs vermindert werden kann. Dieser Anstieg kommt vor allem durch die positiv chronotrope Wirkung der Katecholamine zustande, die über eine Stimulierung von β_1 -Rezeptoren am Sinusknoten ausgelöst wird. Diese Steigerung der Herzfrequenz und damit des Sauerstoffverbrauches wird bei der Anwendung von Milrinon nicht in diesem Ausmaß beobachtet wie es von den Katecholaminen bekannt ist, da es nicht am β_1 -Rezeptor angreift (Di Bianco et al., 1991). Ein weiterer Vorteil einer Katecholamineinsparung ist darin zu sehen, dass zu hohe Katecholaminkonzentrationen über eine Aktivierung einer durch extrazelluläre Signale regulierten cAMP abhängigen Kinase bei der Auslösung der Apoptose in ventrikulären Kardiomyozyten mitbeteiligt sind, dass aber andererseits niedrige Katecholaminkonzentrationen einen vor Apoptose schützenden Effekt bedingen. Dieser Sachverhalt wurde am Myokard erwachsener Ratten von der Arbeitsgruppe um Henaff nachgewiesen (Henaff et al., 2000). Eine Reduzierung der therapeutischen Katecholamingaben führt auch zu einer Verminderung der durch diese Substanzgruppe hervorgerufenen kardialen und extrakardialen Nebenwirkungen, was zu einer nennenswerten Prognoseverbesserung der postoperativen rechtsventrikulären Insuffizienz, die mit einer sehr hohen Morbiditäts- und Mortalitätsrate behaftet ist (Davila-Roman et al., 1995), führen könnte. So führen hohe Katecholamindosen am Herzen zum vermehrten Auftreten von Extrasystolen und anderen Rhythmusstörungen bis hin zum Kammerflimmern, was zumindest teilweise durch eine Verstärkung von bereits bestehenden Hypokaliämie- und

Hyperkalzämietendenzen zu erklären ist. Weiterhin wird der Wirkungsgrad der Herzarbeit enorm verschlechtert. Die Gefäßwirkung von Adrenalin ist nicht einheitlich, da es sowohl die dilatierenden β_2 - Rezeptoren als auch die konstringierenden Alpha-1-Rezeptoren erregt. Während an den Koronargefäßen die vasodilatatorische Wirkung überwiegt, bewirkt die Infusion größerer Mengen Adrenalin an den Haut- und Nierengefäßen eine Vasokonstriktion, die zu einer Erhöhung des totalen peripheren Widerstandes führt. Zusammen mit einer verstärkten Reninfreisetzung aus dem juxtaglomerulären Apparat der Nieren führt diese Erhöhung zu einer teilweise starken Zunahme des systemischen Blutdrucks, der das bereits insuffiziente Herz zusätzlich belastet. Im Splanchnikusgebiet führen hochdosierte Katecholamingaben zu einer durch Vasokonstriktion bedingten kritischen Einschränkung der Durchblutung, was bis zur hämorrhagischen Infarzierung mit letalem Ausgang führen kann.

7.8 Klinische Bedeutung

Bei der Anwendung von Milrinon werden vor allem diese schwerwiegenden extrakardialen Nebenwirkungen nicht beobachtet. Beschrieben wurden Hautreaktionen in Form von Exanthenen, ein Abfall der Thrombozytenzahl, eine Verminderung der Hämoglobinkonzentration und eine Erhöhung der Leberwerte. Hingegen treten cardiale Komplikationen wie gelegentliche ventrikuläre Extrasystolen, nichtanhaltende ventrikuläre Tachykardien und in Einzelfällen auch temporäre Torsade de pointes Tachykardien auf. Weiterhin kann es unter Milrinongabe zu einer Abnahme des systemischen Blutdruckes kommen, wodurch der Bedarf an Vasopressoren ansteigen kann. Über die systemischen Wirkungen und Nebenwirkungen sowohl der Katecholamine als auch von Milrinon kann aufgrund unserer Ergebnisse keine Aussage getroffen werden, da unser Modell bewusst nur die myokardialen Effekte beider Substanzen erfasst. Da die systemischen Effekte kein Bestandteil dieser Studie waren wurden sie ausgeblendet und stellen somit keine Störfaktoren dar.

Die erzielten Ergebnisse sind insofern von klinischer Relevanz für die Behandlung der rechtsventrikulären Insuffizienz, da sie zeigen, dass durch die Anwendung von Milrinon die rechtsventrikuläre Pumpfunktion des ischämischen, isolierten Rattenherzen verbessert werden kann. Weiterhin zeigen die Ergebnisse, dass an unserem Modell durch die Applikation von Milrinon die Katecholaminmenge deutlich reduziert werden kann, was aufgrund des Wirkungsmechanismus der Phosphodiesterase-III-Inhibitoren zu einem reduzierten

Sauerstoffbedarf der insuffizienten Herzmuskelzellen führt. Ob diese durch die Gabe von Milrinon im Tierversuch erreichbare Reduktion des Sauerstoffverbrauchs für Patienten mit postischämischer, postoperativer Rechtsherzinsuffizienz einen prognoseverbessernden Faktor darstellt, wird in klinischen Studien zu prüfen sein.

Diese Arbeit wurde vom Institut für zentrale klinische Forschung (IZKF) unterstützt.

ZKF-Nachwuchsförderungsprogramm 2001; Projekt N 18

8 Zusammenfassung

Einleitung: Das Versagen des rechten Herzventrikels (RV) ist eine schwerwiegende operative Komplikation bei Eingriffen mit der Herz-Lungen-Maschine. Protektionsschäden des RV können zur rechtsventrikulären Insuffizienz führen, die ein Entwöhnen von der HLM unmöglich macht. In einer sehr uniformen Ausprägung wird die akute RV Insuffizienz häufig nach orthotoper Herztransplantation beobachtet. Der untrainierte RV erleidet durch die notwendige Konservierung einen ischämischen Schaden und wird überdies nach Implantation einer chronisch fixierten erhöhten Nachlast ausgesetzt. Die akute RV Insuffizienz kann häufig nur mit aggressiver Vor- und Nachlastsenkung in Kombination mit Katecholaminen beherrscht werden. Strategien, mit denen die Funktion des RV verbessert werden kann, sind rar. Die Myokardprotektion des Herzens ist nach langjähriger Forschung auf einem Stand, der in der präischämischen Phase kaum weitere Optimierungen erwarten lässt. Die postischämische pharmakologische Beeinflussung weist hingegen Möglichkeiten der Optimierung auf. Phosphodiesterase-III-Inhibitoren verbessern die ventrikuläre Schlagarbeit ohne Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs des Myozyten, was eine Ökonomisierung der Schlagarbeit zur Folge hat. Die Phosphodiesterase-III-Inhibitoren Amrinon, Enoximon und Milrinon sind bereits oft klinisch erfolgreich zur Therapie der ventrikulären Insuffizienz verwendet worden, haben sich im klinischen Kontext aber trotz der guten Resultate nicht vollständig durchgesetzt. Insbesondere im pädiatrischen Bereich zeigen jüngere Arbeiten positive Effekte auf. Wenige Arbeiten haben sich allerdings bisher mit den PDE-III-Inhibitoren im Rahmen des rechtsventrikulären Versagens in der konventionellen Herzchirurgie als auch bei der Herztransplantation beschäftigt.

Ziele der Arbeit: In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung des PDE-III-Inhibitors Milrinon auf die postischämische rechtsventrikuläre Pumpfunktion des Herzens unter Verwendung eines rechtsventrikulär arbeitenden modifizierten Langendorff-Modells der Ratte untersucht. Ziel war es, den positiv inotropen Effekt von Milrinon auf das akut rechtsbelastete Herz tierexperimentell an einem extrakorporal arbeitenden Modell gezielt unter erhöhten Nachlastbedingungen zu evaluieren um mögliche Grundlagen für neue therapeutische Optionen in der Behandlung einer akuten postoperativen Rechtsherzinsuffizienz zu schaffen.

Material und Methoden: Nach Präparation und einer vierstündigen hypothermen Ischämiephase wurden die Rattenherzen mit einer erythrozytenhaltigen oxygenierten Perfusionslösung unter Verwendung eines modifizierten Langendorff-Modells reperfundiert und die rechten Ventrikel verschiedenen Nachlasthöhen ausgesetzt. Als Parameter der Myokardfunktion während der postischämischen Reperfusion wurden bei den verschiedenen

Versuchsgruppen (n = 10 pro Gruppe) nach Applikation von Milrinon, Adrenalin und der Kombination der beiden Substanzen in unterschiedlichen Dosierungen jeweils der Cardiac Output und die Herzfrequenz bestimmt, sowie der Cardiac Index und der Schlagvolumenindex berechnet. Als Kontrolle diente eine reperfundierte Gruppe ohne pharmakologische Beeinflussung. Nach Beendigung der Versuche erfolgte eine immunhistochemische Bestimmung der myokardialen cAMP-Konzentration der Herzen der verschiedenen Versuchsgruppen, um die Einflüsse der applizierten Pharmaka auf diesen Parameter zu analysierten.

Ergebnisse: Die postischämische Gabe des PDE-III-Inhibitors Milrinon führt zu einem starken Anstieg der hämodynamischen Parameter in Bezug auf den nicht pharmakologisch beeinflussten rechten Ventrikel, wobei aber nicht so hohe Werte erreicht werden wie durch die alleinige Applikation der äquimolaren Dosis Adrenalin. Die Kombination von Adrenalin und Milrinon (jeweils 0,5 µg/kg/min) weist bezüglich der Parameter Cardiac Output, Herzfrequenz und Cardiac Index den signifikantesten Unterschied im Vergleich zur Kontrollgruppe auf. Eine Halbierung der Adrenalindosis auf 0,25 µg/kg/min in Kombination mit Milrinon (0,5 µg/kg/min) führt zu keinen signifikanten Unterschieden in Bezug auf die alleinige Gabe von Adrenalin in einer Dosierung von 0,5 µg/kg/min.

Klinische Bedeutung: Die an unserem Modell gewonnenen Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass durch die Anwendung des Phosphodiesterase-III-Hemmers Milrinon in der Therapie der postischämischen, postoperativen akuten Rechtsherzinsuffizienz die notwendigen Applikationsmengen von Katecholaminen reduziert werden könnten, was in weiterführenden tierexperimentellen und klinischen Studien zu untersuchen ist. Diese teilweise Ersetzung der Katecholamine durch Milrinon führt aufgrund des Wirkungsmechanismus von Phosphodiesterase-III-Inhibitoren zu einem geringeren Anstieg des Sauerstoffverbrauchs der Myozyten des rechtsventrikulär insuffizienten Herzens. Durch einen teilweisen Ersatz der Katecholamine können auch die übrigen cardialen und extracardialen Nebenwirkungen dieser Substanzklasse minimiert werden, was zu einer besseren Prognose der akuten postoperativen Rechtsherzinsuffizienz führen könnte.

9 Literaturverzeichnis:

- [1] Albes JM, Rohde R and Haverich A (1994)
Protection of the right ventricular myocardium during acute right heart failure from pulmonary hypertension.
Eur Surg Res 26: 62-68.

- [2] Arafa E, Geiran OR, Andersen K, Fosse E, Simonsen S and Svennevig JL (2000)
Intraaortic balloon pumping for predominantly right ventricular failure after heart transplantation.
Ann Thorac Surg 70: 1587-1593.

- [3] Asfour B, Hare JM, Kohl T, Baba HA, Kass DA, Chen K, Tjan TD, Hammel D, Weyand M, Hruban RH, Scheld HH and Byrne BJ (1999)
A simple new model of physiologically working heterotopic rat heart transplantation provides hemodynamic performance equivalent to that of an orthotopic heart.
J Heart Lung Transplantation 10: 927-936

- [4] Ashruf JF, Ince C and Bruining HA (1999)
Regional ischemia in hypertrophic Langendorff-perfused rat hearts.
AJP – Heart and Circulatory Physiology 277, Issue 4: H1532-H1539.

- [5] Bauer J, Dapper F, Demirakca S, Knothe C, Thul J and Hagel KJ (1997)
Perioperative management of pulmonary hypertension after heart transplantation in childhood.
J Heart Lung Transplant.16: 1238-1247.

- [6] Bittner HB, Chen EP, Biswas SS, VanTrigt P and Davis RD (1999)
Right ventricular dysfunction after cardiac transplantation: primarily related to status of donor heart.
Ann Thorac Surg 68:1605-1611.

- [7] Boldt, J, D Kling, B Zickmann, F Dapper and G Hempelmann (1990)
Efficacy of the phosphodiesterase inhibitor enoximone in complicated cardiac surgery.
Chest 98: 53-58.

- [8] Canver C and Chanda J (2000)
Milrinone for long-term pharmacologic support of the status 1 transplant candidates.
Ann Thorac Surg 69:1823-1826.

- [9] Carrier M, Blaise G, Belisle S, Perrault L P, Pellerin M, Petitclerc R and Pelletier L C
(1999) Nitric oxide inhalation in the treatment of primary graft failure following heart
transplantation.
J Heart Lung Transplant 18: 664-667.

- [10] Chen E, Bittner H, Davis R and VanTrigt P (1997)
Milrinone Improves Pulmonary Hemodynamics and Right Ventricular Function in
Chronic Pulmonary Hypertension
Ann Thorac Surg 63:814-821.

- [11] Chiariello M, Perrone-Filardi P (1999)
Pathophysiology of heart failure.
Miner Electrolyte Metab 25(1-2):6-10

- [12] Cossolini, M, F Ferri, A Giupponi, O Valoti and Veritti U (1997)
Enoximone in the treatment of postoperative low cardiac output syndrom in pediatric
heart surgery. Open study in tetralogy of Fallot.
Minerva Anesthesiol 63: 213-219.

- [13] Cusick DA, Pfeifer PB and Quigg RJ (1998)
Effects of intravenous milrinone followed by titration of highdose oral vasodilator
therapy on clinical outcome and rehospitalization rates in patients with severe heart
failure.
Am J Cardiol 82: 1060-1065

- [14] Davila-Roman VG, Waggoner AD, Hopkins WE and Barzilai B (1995)
Right ventricular dysfunction in low output syndrome after cardiac operations:
Assessment by transesophageal echocardiography.
Ann Thorac Surg 60: 1081-1086.

- [15] Deiml R (2001) Ausgewählte Themen zur operativen Intensivmedizin:
3. überarbeitete Auflage – Hamburg [Deiml]

- [16] Dettli L (1996)
Pharmakokinetische Daten für die Dosisanpassung.
Grundlagen der Arzneimitteltherapie: 13-21

- [17] Di Bianco R (1991)
Acute positive inotropic intervention: the phosphodiesterase inhibitors.
Am Heart J 121: 1871-1875.

- [18] Floreani M, Borea P A, Gessi S, Mosti L, Fossa P and Dorigo P (1997)
A new Milrinone Analog: Role of binding to A1-adenosine receptor in its
positive inotropic effect on isolated guinea pig and rat atria.
JPET Pharmacology Vol. 283: Issue 2, 541-547.

- [19] Fukuse T, Hirata T, Liu CJ, Ueda M, Nakamura T, Hitomi S and Wada H (1996)
Assessment of preserved lung function in an ex vivo rat model perfused with
homologous blood.
Transplant Proc 28: 1832-1833.

- [20] Gross GJ, Kersten JR and Warltier DC (1999)
Mechanism of postischemic contractile dysfunction.
Ann Thorac Surg 68: 1898-1904.

- [21] Gwathmey JK, Morgan JP (1985)
The effects of milrinone and piroximone on intracellular calcium handling in working
myocardium from the ferret.
British Journal of Pharmacology 85 (1):97-108

- [22] Henaff M, Hatem SN and Mercadier JJ (2000)
Low catecholamine concentrations protect adult rat ventricular myocytes against apoptosis through cAMP-dependent extracellular signal- regulated kinase activation.
Mol Pharmacol 58(6):1546-53.
- [23] Iyer RS, Jacobs JP, de Leval MR, Stark J and Elliott MJ (1997)
Outcomes after delayed sternal closure in pediatric heart operations: a 10year experience
Ann Thorac Surg 63: 489-491.
- [24] Kark P and Gillmer DJ (1984) Dangers of amrinone.
S Afr Med J 66: 6.
- [25] Karsanov NV, Guledani NE and Kuchava LT (2001)
Role of actin and myosin in the mechanism of the decrease of myocardial contractility and efficiency of energy transformation by myocardial myofibrils in chronic heart failure in humans.
Bull Exp Biol Med 132(5):1100-1105.
- [26] Kikura M, Levy JH, Michelsen LG, Shanewise JS, Bailey JM, Sadel SM and Szlam F (1997) The effect of milrinone on hemodynamics and left ventricular function after emergence from cardiopulmonary bypass.
Anesthesia & Analgesia 85(1):16-22.
- [27] Kirsten R, Nelson K, Kirsten D and Heintz B (1998a)
Clinical pharmacokinetics of vasodilators. Part I:
Clin Pharmacokinet 34: 457-482.
- [28] Kirsten R, Nelson K, Kirsten D and Heintz B (1998b)
Clinical pharmacokinetics of vasodilators. Part II:
Clin Pharmacokinet 35: 9-36.

- [29] Kleber FX (1999)
Therapy of acute heart failure, medicamentous strategy.
Z Kardiologie 88 (6):394-9
- [30] Konertz W, Bushe S, Hotz H, Spies C, Enzweiler C and Kleber FX (2001)
Cardiac support device: Novel surgical option for heart failure.
Asian Cardiovasc Thorac Ann 9: 167-170
- [31] Krieg P, Wahlers T, Giess W, Rohde R, Hartrumpf M, Bund M and Haverich A
(1998) Inhaled nitric oxide and inhaled prostaglandin E1: effect on left ventricular
contractility when used for treatment of experimental pulmonary hypertension.
Eur J Cardiothorac Surg 14: 494-502
- [32] Langendorff O (1895)
Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen.
Pflügers Arch Ges Physiol 61: 291
- [33] Laitinen P, Happonen JM, Sairanen H, Peltola K, Rautianen P, Korpela R
and Leijala M (1997)
Amrinone versus dopamine-nitroglycerin after reconstructive surgery for complete
atrioventricular septal defect
J Cardiothorac Vasc Anesth 11: 870-874.
- [34] Latifi S, Lidsky K and Blumer JL (2000)
Pharmacology of inotropic agents in infants and children.
Prog Pediatr Cardiol 12(1):57-79
- [35] Liggett SB (2001)
 β -adrenergic receptors in the failing heart: the good, the bad and the unknown.
J Clin Invest 107(8):947-948

- [36] Likoff MJ, Weber KT, Andrews V and Janicki JS (1983)
Amrinone: a promising new cardiotonic agent in the treatment of chronic cardiac failure.
Herz 8: 199-205.
- [37] Liu JJ, Doolan LA, Xie B, Chen JR and Buxton BF (1997)
Direct vasodilator effect of milrinone, an inotropic drug, on arterial coronary bypass grafts.
J Thorac Cardiovasc Surg 113: 108-113.
- [38] Lobato EB, Florete O Jr. and Bingham HL (1998)
A single dose of milrinone facilitates separation from cardiopulmonary bypass in patients with pre-existing left ventricular dysfunction.
Br J Anaesth 81: 782-784.
- [39] Maskin CS, Weber KT and Janicki JS (1987)
Long-term oral enoximone therapy in chronic cardiac failure.
Am J Cardiol 60: 63C-67C.
- [40] Morgan JP, Gwathmey JK, DeFeo TT and Morgan KG (1986)
The effects of amrinone and related drugs on intracellular calcium in isolated mammalian cardiac and vascular smooth muscle.
Circulation 73, Suppl. III: III-65 – III-77.
- [41] Morris JJ, Hamm DP, Pellom A, Abd-Elfattah A and Wechsler AS (1988)
Differential ventricular ischemic injury: an experimental model of right ventricular failure with a variable degree of left ventricular dysfunction.
J Thorac Cardiovasc Surg 96: 590-599.
- [42] Mubeen M, Surajit D, MCh Surendra Kumar Agarwal, MCh, Ashok Kumar Srivastava, MCh and Vivek M Kanhere, MCh, (2001)
Delayed sternal closure after cardiac Operations.
Asian Cardiovasc Thorac Ann 9: 82-85.

- [43] Neely JR, Liebermeister H, Battersby EJ and Morgan HE (1967)
Effect of pressure development on oxygen consumption by isolated rat hearts.
Am J Physiol 212: 804-814.

- [44] Nygren A, Kondo C, Clark RB and Giles WR (2001)
Voltage-sensitive dye mapping in the Langendorff-perfused rat heart
Am J Physiol Heart Circ Physiol Nov 7: epub ahead of print

- [45] Packer M (1989)
Effect of phosphodiesterase inhibitors on survival of patients with chronic congestive heart failure.
Am J Cardiol. 63: 41A-45A.

- [46] Pacjer NM, Rodeheffer RJ, Ivanhoe RJ, DiBianco R, Zeldis SM Hendrix GH, Bommer WJ, Elkayam U, Kukin ML and et al.(1991)
Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure.
New England Journal of Medicine 325:1468-1475

- [47] Pridjian A, Frohlich E, VanMeter C, McFadden P and Ochsner J (1995)
Pharmacologic support with high-energy phosphate preservation in the postischemic neonatal heart.
Ann Thorac Surg 59:1435-1440.

- [48] Rote Liste® (2002): Arzneimittlverzeichnis des Bundesverbandes der Pharmazeutischen Industrie e.V, Herausgeber: Rote Liste® Service GmbH, Frankfurt am Main

- [49] Sanada S, Kitakaze M, Papst PJ, Asanuma H, Node K, Takashima S, Asakura M, Ogita H, Liao Y, Sakata Y, Ogai A, Fukushima T, Yamada J, Shinozaki Y, Kuzuya T, Mori H, Terada N and Hori M (2001)
Cardioprotective effect afforded by transient exposure to phosphodiesterase III inhibitors: the role of protein kinase A and p38 mitogen-activated protein kinase.
Circulation 104(6):705-10

- [50] Seow CY, Morishita L and Bressler BH (1998)
Milrinone inhibits contractility in skinned skeletal muscle fibers.
AJP – Cell Physiology 274, Issue 5: C1306-C1311

- [51] Sharp and LaRegina (2000):
The laboratory rat.
CRC-Press.LCC, Ratgeber 40/2000

- [52] Spalding MB, Ala-Kokko TI, Kiviluoma K, Ruskuaho H and Alahuhta S (2000)
The hemodynamic effects of adenosine infusion after experimental right heart infarct
in young swine.
J Cardiovasc Pharmacol. 35(1): 93-99

- [53] Sunderdiek U, Korbmacher B, Gams E and Schipke J (2000)
Myocardial efficiency in stunned myocardium. Comparison of Ca^{2+} -sensitization and
PDE III-inhibition on energy consumption.
Eur J Cardiothorac Surg 18:83-89

- [54] Taketo T, Masafumi Y, Michihiro K, Takeshi Y, Takayuki H, Kaoru O, Takeshi U,
Shigeki K, Yuhiji H, Tomoko O and Masunori M (2000)
Mechanism of preserved positive lusitropy by cAMP-dependent drugs in heart failure.
AJP-Heart and Circulatory Physiology Vol.278: Issue 2, H313-H320.

- [55] Treese N, Rhein S, Erbel R and Meyer J (1989)
Long-term enoximone therapy in unstable chronic heart failure.
J Cardiovasc Pharmacol 14 Suppl 1: S78-S83.

- [56] Van Trigt P, Bittner HB, Kendall SW and Milano CA (1995)
Mechanisms of transplantant right ventricular dysfunction.
Ann Surg 221: 666-675

- [57] Yeying P, Walker JW (1998)
Role of intracellular Ca^{2+} and pH in positive inotropic response of cardiomyocytes to diacylglycerol.
Heart and Circulatory Physiology 275 Issue 4: H1473-H1481
- [58] Yokohama H, Ohmi M, Iguchi A, Murata S, Nakame T, Tabayashi K and Mohri H (1992) Changes in myocardial beta-adrenergic receptors during acute rejection of heterotopically transplanted rat hearts.
J Thorac Cardiovasc Surg 104: 1567-1571.
- [59] Zwissler B (2000)
Acute right heart failure. Etiology, pathophysiology, diagnosis, therapy.
Anaesthesist 49(9):785-7.

10 Lebenslauf

| | |
|----------------------|--|
| Name: | Gdynia |
| Vorname: | Hans-Jürgen |
| Geburtsdatum: | 17.03.1976 |
| Geburtsort: | Trostberg, Bayern |
| Familienstand: | verheiratet mit Natalie Gdynia, geb. Burkanow, Medizinstudentin |
| Staatsangehörigkeit: | deutsch |
| Religion: | römisch-katholisch |
| Eltern: | Werner Gdynia, Beamter Marianne Gdynia, geb. Winkler, Büroangestellte |
| Geschwister: | Daniela Gdynia, Pharmazeutisch-kaufmännische Angestellte |
| Schulbildung: | <p>Grundschule: 1982-1986 in Palling</p> <p>Hauptschule: 1986-1988 in Palling</p> <p>Realschule: 1988-1993 in Trostberg</p> <p>Gymnasium: Friedrich-Dessauer-Gymnasium Frankfurt/Main</p> <p>Allgemeine Hochschulreife am 07.07.1998</p> |
| Wehrdienst: | Ableistung des Grundwehrdienstes 01.07.1996-30.04.1997 bei GebPzFlagRgt 8 in Traunstein |
| Studium: | <p>Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena (FSU) am 01.10.1998</p> <p>Bestehen der Ärztlichen Vorprüfung am 15.09.2000</p> <p>Notendurchschnitt: 2,0</p> |

Bestehen des Ersten Abschnittes der Ärztlichen Prüfung
am 17.09.2001

Notendurchschnitt: 1,0

Dissertation:

Beginn einer Doktorarbeit im November 2000 zum Thema
„Der Einfluß des Phosphodiesterase-III-Inhibitors Milrinon
auf die Pumpfunktion des ischämischen, isolierten Rattenherzens“
in der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie an der
FSU Jena unter Betreuung von Herrn PD Dr. med. J.M.Albes und
Univ.-Prof. Dr. med. Th. Wahlers

Jena, Juli 2003

(Hans-Jürgen Gdynia)

11 Erklärung nach § 5 Abs.1, Satz 3.1-3.6 der Promotionsordnung der FSU Jena

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: -

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwertige Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule zur Dissertation eingereicht habe.

Jena, Juli 2003

(Hans-Jürgen Gdynia)

12 Danksagung:

Für die Zurverfügungstellung eines Arbeitsplatzes im Labor und die damit verbundene Möglichkeit zum wissenschaftlichen Arbeiten möchte ich mich sehr herzlich bei Herrn Universitätsprofessor Dr. med. Th. Wahlers, Direktor der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie an der FSU Jena, bedanken. Mein Dank gilt weiterhin Herrn PD Dr. med. J.M. Albes und Herrn Dr. med. Parwis Rahmanian für die Überlassung des Themas und die gute Betreuung der Arbeit.

Überdies gilt mein besonderer Dank Frau Simone Böhm und Frau Sigrun Kirste für die hervorragende technische Unterstützung bei der Durchführung der dieser Arbeit zugrundeliegenden Versuchsreihen.

Für das Korrekturlesen des Manuskriptes und Ihre Unterstützung möchte ich mich auch sehr herzlich bei meiner Ehefrau cand.med. Natalie Gdynia bedanken, der ich diese Arbeit widmen möchte.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden auf folgenden Kongressen veröffentlicht:

Parwis Rahmanian, H.-J. Gdynia, S. Böhm, J.M. Albes und T. Wahlers; Jena:

Die rechtsventrikuläre Funktion ischämischer, isolierter Rattenherzen kann durch den Phosphodiesterase-III-Inhibitor Milrinone verbessert werden.

6. Chirurgische Forschungstage Köln; 28.-30.11.2002

P Rahmanian, H-J Gdynia; S Boehm, JM Albes and T Wahlers, Jena:

Right ventricular function in ischemic isolated rat hearts can be improved by means of The phosphodiesterase-III-inhibitor milrinone.

32. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie; 23.-26.02.2003

Jena, Juli 2003

(Hans-Jürgen Gdynia)